

THESIS

TÜBINGEN

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen

Direktor: Professor Dr. med. H. E. Bock

1967

Beobachtungen an doppelbrechenden Strukturen
in den Retikulozyten des peripheren Blutes
nach Supravitalfärbung mit Toluidinblau

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Michael Grehn
aus Weilburg/L.

1967

9083

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen

Direktor: Professor Dr. med. H. E. Bock

Beobachtungen an doppelbrechenden Strukturen
in den Retikulozyten des peripheren Blutes
nach Supravitalfärbung mit Toluidinblau

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizin

einer Hohen Medizinischen Fakultät

der Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Michael Grehn

aus Weilburg/L.

1967

Dekan: Professor Dr. F. Lembeck

1. Berichterstatter: Professor Dr. H.P. Mißmahl
2. Berichterstatter: Professor Dr. H.E. Bock



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153519_0062

I n h a l t s a n g a b e

Einleitung	Seite	4
I. Allgemeiner Teil		
1. Bedeutung der Retikulozyten		5
2. Entstehung und Reifung der Retikulozyten		5
3. Die Struktur der Retikulozyten		9
4. Stoffwechselvorgänge im Retikulozyten		12
5. Doppelbrechende Strukturen in den Zellen des peripheren Blutes		16
II. Material und Methodik		
1. Blutentnahme, Färbung Mikroskopische Untersuchung		18
2. Gesunde Menschen und Krankengut		19
3. Blut aus der Nabelvene des Neugeborenen		20
4. Tierblut		20
5. Retikulozytenzahl		20
III. Untersuchungen und Ergebnisse		
A. Allgemeine Befunde		20
B. Beobachtungen an Retikulozyten gesunder Menschen		24
C. Beobachtungen an Retikulozyten anämisch erkrankter Menschen		25
D. Patienten ohne Bluterkrankungen		30
E. Befunde über Retikulozyten des Nabelvenen- blutes		31
F. Beobachtungen an tierischen Retikulozyten		31
Zeichnungen		33
Tabellen zu den Untersuchungen		36
IV. Diskussion der Ergebnisse		41
V. Zusammenfassung		44
Literaturverzeichnis		46
Auszüge aus den Krankenblättern		49
Kurvenverläufe I - VII		57

Einleitung

Für die Diagnose und Therapie zahlreicher Erkrankungen kommt der mikroskopischen Beobachtung und Zählung der Retikulozyten, d.h. der jungen Erythrozyten, die nach bestimmten Färbungen im lebenden Zustand eine netzartige oder granulierte Struktur im Protoplasma zeigen, wesentliche Bedeutung zu.

Seit einigen Jahren werden unter der Leitung von M i s s m a h l an der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen polarisationsmikroskopische Untersuchungen an den Zellen des menschlichen Blutes vorgenommen. Auf seine Anregung hin habe ich mir zur Aufgabe gesetzt, Retikulozyten im peripheren Blut des gesunden Menschen zu untersuchen. Es sollen ferner etwaige Unterschiede der Retikulozyten gesunder und anämisch erkrankter Personen bezüglich ihres Verhaltens zwischen gekreuzten Polarisationsfiltern dargestellt werden.

I.

1. Bedeutung und zahlenmäßige Erfassung der Retikulozyten

Paul Ehrlich hat im Jahre 1881 die Retikulozyten erstmalig beschrieben; 1907 wurden sie in ihrer Bedeutung als Regenerationszeichen von Cesaris - Demel erkannt (2). Ihre Eigenschaft, ein Maßstab für die Fähigkeit des Knochenmarks zur Bildung von roten Blutzellen zu sein, wurde seitdem immer wieder von anderen Autoren bestätigt (33;35). Wie Versuche ergaben, sind die roten Blutkörperchen, die nach Supravitalfärbung mit bestimmten Farbstoffen eine netzige bis körnige Innenstruktur zeigen, identisch mit den fixierten blaßbläulichen Erythrozyten der Färbung nach Giemsa und May-Grünwald. In beiden Fällen handelt es sich um jugendliche Erythrozyten, in dem einen Fall spricht man von Retikulozyten, im anderen von basophil polychromatischen Erythrozyten(8). Seitdem die Retikulozyten in ihrer Bedeutung als Regenerationszeichen bekannt sind, hat man sich um sichere Auszählverfahren bemüht. Dabei traten Zählkammermethoden gegenüber Ausstrichverfahren in den Hintergrund(8). Die heute allgemein angewandte Methode stammt von L. Heilmeyer; sie besteht im Ausstreichen des bereits vital gefärbten Blutes auf einem Objektträger und nachfolgender Auszählung der Retikulozyten auf 1000 Erythrozyten. Heilmeyer fand mit der von ihm entwickelten Methode bei Gesunden Werte zwischen 5 und 15%. Ähnliche Werte geben Osgood und Mitarbeiter (5-38%) und Enderslee (10-25%) an (8). In der Schwangerschaft und post partum sind die Retikulozytenwerte auf Grund der gesteigerten Mark-tätigkeit auf 23% im Durchschnitt erhöht (8).

2. Entstehung und Reifung der Retikulozyten

Der Entstehungsort des Retikulozyten ist das Knochenmark, sein Vorläufer in der Kette der Erythropoese, die mit dem Proerythroblasten beginnt und mit dem reifen, nicht mehr vital granulierten Erythrozyten endet, ist der Normoblast.

Erst kürzlich konnten M a r m o n t und D o m a s i o die Entstehung der Retikulozyten zytomorphologisch darstellen (15). Bei fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen der Erythropoese im Knochenmark fanden sie an der Peripherie von Erythroblastennestern reife Normoblasten, die von einer oder mehreren Retikulozyten"krone" umgeben waren. "Was die Retikulozyten der Krone betrifft, hat es sich stets um Erythrozyten gehandelt, die sehr reich an Substantia granulofilamentosa sind und die zu den ersten Klassen der H e i l - m e y e r'schen Klassifikation gehören." Die Autoren konnten ferner die Entstehung der kernfreien jungen Erythrozyten, d.h. die Entkernung der Normoblasten am Rand der Erythroblastennester studieren. Sie schließen aus ihren Beobachtungen sowie aus zahlenmäßigen Vergleichen zwischen Erythroblastose, retikulozytopoetischen Erythroblastennestern im Knochenmark einerseits und der peripheren Retikulozytose andererseits, daß es sich somit um die morphologische Darstellung einer o b l i g a t e n Phase innerhalb der Erythropoese handelt.

Wie die Ablösung der Retikulozyten vom Erythroblastennest erfolgt, ist bisher nicht einwandfrei geklärt. Wie M a r m o n t und D o m a s i o anführen(15), besitzen Retikulozyten einerseits eine größere Klebrigkeit als reife Blutkörperchen, andererseits ist ihnen eine wenn auch geringe aktive Beweglichkeit eigen. Diese beiden Faktoren üben nach Ansicht der Autoren vermutlich einen Einfluß auf die Vorgänge an der medullären Schwelle aus.

Nach seinem Übertritt in die Blutbahn macht der Retikulozyt eine bestimmte Reifung bis zum fertigen Erythrozyten durch. Das auffälligste Merkmal dieser Entwicklung ist die Veränderung der S u b s t a n t i a g r a n u l o f i l a m e n t o - s a. Schon früh wurden die mannigfaltigen Strukturen der vital färbbaren Substanz beobachtet und dienten zu verschiedenen Einteilungssystemen. Ein sicheres Schema konnte jedoch erst nach Kenntnis der Reifungsvorgänge gegeben werden (8).

H e i l m e y e r hat 1932 die heute gebräuchliche Einteilung angegeben(9). Er unterscheidet die Stadien O, I, II, III, IV.

Stadium O umfaßt die noch kernhaltigen Erythrozyten, bei denen die basophile Substanz den Kern als dichtes Netz umgibt.

Stadium I erfaßt die Zellen, bei denen die basophile Substanz als dichtes Knäuel in der Mitte der Zelle liegt. Dem

Stadium II ordnet man die Retikulozyten zu, deren basophile Substanz sich als lockeres Netz über die ganze Zelle ausbreitet. Zu

Stadium III gehören die Zellen, deren Netz schon in Auflösung begriffen ist. Man sieht nur noch einzelne Stücke des Rete in unregelmäßiger Verteilung.

Stadium IV nennt H e i l m e y e r die Körnchen- oder Ausreifungsform. Sie umfaßt die Retikulozyten, deren basophile Substanz nurmehr in Form von Körnchen oder Fädchen vorhanden ist.

Durch Bebrütungsversuche und gleichzeitige Kontrolle der Atmungsvorgänge konnte gezeigt werden(8), daß die Formen der Gruppe O - II in die Formen der Gruppe III - IV übergehen. Es handelt sich also um einen physiologischen Reifungsprozeß, der z.B. durch Unterkühlung (Seyfarth/29) oder durch Röntgen-Bestrahlung in hohen Dosen (M a r d e r s t e i g/14) gebremst werden kann.

Das Knochenmark gibt im Normalfall Retikulozyten im Reifungsstadium III ab. Somit bezeichnet man die Stadien O - II als unreife, die Stadien III und IV als reife Retikulozytenformen(8). Die unreifen Formen zeichnen sich neben ihrem typischen mikroskopischen Bild auch durch die Eigenschaft aus, an der physiologischen "Geldrollen"-Bildung der Erythrozyten nicht teilzunehmen und bei der Senkung oberhalb der roten Säule zu schweben. Die Formen III und IV dagegen verhalten sich wie normale reife Erythrozyten(8).

Mehrere Autoren haben die Reifungszeit der Retikulozyten untersucht(8) und dabei festgestellt, daß die Formen I und II

eine Zeit von ca. 48 Std., die Formen III und IV eine Zeit von ca. 24 Std. zur Ausreifung in nicht mehr vitalgranulierende Erythrozyten benötigen. Bei einem Retikulozyten-Normalwert von ca. 10 % und einer Reifungszeit von etwa einem Tag müßte also für die vollständige Regeneration der roten Blutkörperchen ein Zeitraum von ca. 100 Tagen angesetzt werden. Bei dieser Rechnung wird allerdings vorausgesetzt, daß die Erythrozytenzufuhr aus dem Knochenmark nur in Form von Retikulozyten erfolgt. Mit verschiedenen Verfahren wurde die durchschnittliche Lebensdauer der reifen roten Blutzelle bestimmt. Sie beträgt ca. 120 Tage. Es sei besonders auf die Methode von B o c k (1) und Mitarbeitern mit Cr⁵¹-markierten Erythrozyten hingewiesen. Unter pathologischen Bedingungen, beispielsweise bei Hämolyse oder größeren Blutverlusten, steigt der Retikulozyten-Gehalt des peripheren Blutes bis zu 500 % und sogar darüber an. H e i l m e y e r hat in Versuchen nachgewiesen(8), daß auch in solchen Fällen die Reifungszeit nicht verändert ist, was beweist, daß das Knochenmark noch zu weit höheren Regenerationsleistungen als im Normalfall in der Lage ist.

Über die Frage, ob der Ersatz von Erythrozyten in jedem Fall in Form von Retikulozyten erfolgt, gibt es in der Literatur verschiedene Meinungen. Während I s t o m a n o w a (10) dies auf Grund von Tierversuchen für wahrscheinlich hält, schließt H e i l m e y e r (8) die Möglichkeit nicht aus, daß z.B. der rasche Erythrozytenanstieg nach Lebertherapie bei der Perniziosa auch durch Abgabe bereits reifer, nicht mehr vitalgranulierter Erythrozyten aus dem Knochenmark bedingt sein kann. Jedoch erscheint ihm eine derartige Ausschwemmung ohne gleichzeitige Retikulozytose sehr unwahrscheinlich. Wie seine Beobachtungen ergaben, besteht zwischen der Erythrozytenzahl, der Retikulozytose und der Zerstörungsgröße der Erythrozyten eine durchweg sehr gute Übereinstimmung.

S t o b b e und R i n d haben die Eigenbewegung der Retikulozyten phasenkontrastmikroskopisch untersucht (31). Sie stell-

ten dabei fest, daß die Zellmotilität, die beim Erythroblasten zur Zeit der Kernausstößung am heftigsten ist, in dem Maße abnimmt, wie auch die Granula in der Zelle schwinden. Die Motilität äußert sich in wellenartigen Bewegungen und teilweisen Einschnürungen der Zellmembran. Die Autoren nehmen an, daß es dabei auch zur direkten Retikulozytenteilung kommt, wie sie auch von W e i c k e r diskutiert wird (34).

3. Die Struktur der Retikulozyten

Die Vorgänge der Reifung sind bei dem vital gefärbten Retikulozyten an der sogenannten S u b s t a n t i a r e t i c u l o f i l a m e n t o s a (auch S u b s t a n t i a g r a n u l o f i l a m e n t o s a) zu beobachten. Es ergibt sich in diesem Zusammenhang die Frage: Was ist die Substantia granulofilamentosa? D u s t i n(3) schloss 1944 aus seinen Experimenten mit Ribonukleinsäure, daß die basophile Substanz der Retikulozyten Ribonukleinsäure ist. Diese Feststellung wurde seitdem mehrfach bestätigt (22;28). In der Frage, ob die nach Vitalfärbung mikroskopisch sichtbare Struktur bereits vorgeformt in der Zelle vorhanden ist oder erst beim Färbevorgang entsteht, gehen dagegen die Meinungen auseinander. Einige Autoren wie z.B. R a p o p o r t (22) erklären die Substantia reticulofilamentosa als identisch mit Ribonukleinsäure, die als solche erst nach Vitalfärbung in Strukturform sichtbar werde. Andere, wie H e i l m e y e r (8) und R u h e n s t r o t h - B a u e r (25), halten sie für ein bereits in der lebenden ungefärbten Zelle präformiertes Gebilde, das erst bei Kontakt mit bestimmten Farbstoffen erkennbar wird. Schon 1931 hat S i m m e l (30) aus nicht angefärbten Erythrozyten eine Netzstruktur mit dem Mikromanipulator isolieren können. In neuerer Zeit haben J u n g und A s e n (11) bei elektronenoptischen Untersuchungen das Substrat des Retikulums dargestellt, desgleichen S t o b b e und R i n d im Phasenkontrastverfahren (31). Nach

ihren Beobachtungen "besteht das Chondriom der Erythroblasten also aus Körnern, Körnerketten, Stäbchen- und Fadenformen, die in gleicher Weise im unreifen Retikulozyten mit dem Phasenkontrastverfahren ohne Hämolyse nachweisbar sind." Wie die Autoren berichten, verschwinden die - Mitochondrien entsprechenden - Fädchen und Körnchen, die bereits im kernhaltigen Erythroblasten enthalten sind, im Laufe der Retikulozyten-Reifung. Die Strukturen sind in der fertigen roten Blutzelle auch phasenoptisch nicht mehr nachweisbar, es sei denn durch Hämolyse. S t o b b e und R i n d geben an, daß die von ihnen beobachteten Innenstrukturen "nach Hämolyse oder Anfärbung der Substantia reticulofilamentosa entsprechen."

Die Beantwortung der Frage, was die Substantia reticulofilamentosa sei, ist m.E. abhängig von der Definition. Diese Tatsache tritt sehr gut in der Diskussion des Referates von S t o b b e und R i n d hervor (23;31). R a p o p o r t sieht in der Substantia reticulofilamentosa nur den Stoff, also die RNS. J u n g spricht mit ihr allgemein die Körnchen und Fädchen an, die morphologisch in dem Retikulozyten gefunden werden. In der im Phasenkontrastmikroskop darstellbaren Innenstruktur, die besonders bei Hämolyse sichtbar wird, sieht R i n d die Substantia reticulofilamentosa, da sie sich nach seinen Angaben unter Sicht im Präparat mit Brilliantkresylblau anfärben läßt. R u h e n s t r o t h - B a u e r unterscheidet in der Diskussion um die Definition der Substantia reticulofilamentosa Ort und chemischen Stoff. Nach seiner Ansicht ist die RNS in der Zelle gelöst vorhanden und schlägt sich bei der Vitalfärbung an bereits vorgeformten Strukturen der intakten Zelle nieder. Er lehnt aus diesem Grunde die Bezeichnung Substantia reticulofilamentosa für Strukturen ab, die erst nach künstlicher Hämolyse der Zelle sichtbar werden. Der Verfasser hat durch eigene Versuche gezeigt (25), daß bei Hämolyse des Retikulozyten mit Digitonin und anschließendem Zusatz eines basischen Farbstoffes sich der Zellschatten nicht anfärbt, dagegen kleine Farbstoffniederschläge an der Aussenseite des Schattens zu

beobachten sind. Bei umgekehrten Verfahren, d.h. Hämolyse-
rung eines bereits vital angefärbten Retikulozyten, ist die
angefärbte Struktur im Innern des Schattens zu erkennen.
Wie der Autor ausführt, ergibt der Zusatz eines Vitalfarb-
stoffes zu einer aus Retikulozyten isolierten 1%-igen RNS-
Lösung ebenfalls eine Fällung.

In der ausführlichen Arbeit über die Struktur der Retikulo-
zyten schildert S e n o (28) seine Untersuchungen über die
chemische und morphologische Beschaffenheit des Retikulums.
Ausgehend von der Behauptung D u s t i n s, die Substantia
reticulofilamentosa bestehe im wesentlichen aus Ribonuklein-
säure, bearbeitete er die basophile Substanz mit Ribonuklease
aus Kuhpankreas und konnte diese Annahme bestätigen. In
Vergleichen der Affinität des lebenden Retikulums und der
reinen Ribonukleinsäure zu basischen Farbstoffen zeigten
sich nach Aussage des Autors insofern Unterschiede, als das
Retikulozytennetz die beste Reaktion mit lipophilen Farb-
stoffen, z.B. Nilblau, aufweist, was bei der reinen RNS
nicht der Fall ist. S e n o folgert aus diesem Befund, wie
auch aus Versuchsergebnissen seines Mitarbeiters K a n d a,
der nach Behandlung des Retikulozyten mit Äthergas und Ribo-
nuklease die Substanz mit Sudan Schwarz B anfärben konnte,
daß die Substantia granulofilamentosa auch Lipotide enthält.
Der Verfasser konnte ferner am Retikulozyten einen Gehalt
an Atmungsfermenten, den Verbrauch von O_2 im lebenden Zu-
stand sowie einen Ascherückstand, der im wesentlichen aus
Calcium und Magnesium besteht, feststellen. S e n o nimmt
an, daß das Retikulum auch Faserproteine enthält. Zu die-
ser Aussage veranlassen ihn eigene Versuche mit hypertoni-
scher $NaNO_3$ -Lösung. Da $NaNO_3$ keine Reaktion mit reiner RNS
ergibt, bei Einwirkung auf Retikulozyten aber ein Retikulum
wie bei der Vitalfärbung entsteht, zieht der Autor den
Schluß, daß es sich um Dehydratation von Zytoplasmafibrillen
handelt, die somit an der Bildung der Substantia reticulo-
filamentosa teilhaben.

In vergleichenden Untersuchungen mit der basophilen Substanz
der Erythroblasten konnte er ferner völlige Übereinstimmung

bezüglich ihres Gehaltes an RNS, Lipoiden, Atmungsfermenten sowie Asche und Faserproteinen erkennen.

Es seien die in der vorangegangenen Gegenüberstellung aufgezeigten Erkenntnisse über die Struktur der Retikulozyten nochmals zusammengefaßt:

Der stoffliche Hauptbestandteil der Substantia reticulofilamentosa ist zweifellos RNS, die im Cytoplasma der lebenden Zelle enthalten ist und bei Kontakt mit einem basischen Farbstoff reagiert und optisch erkennbar wird. Vermutlich sind als Gerüstbestandteile Strukturen des Protoplasma an der Bildung der netzig-körnigen Innenstruktur des Retikulozyten beteiligt. Nach Meinung der japanischen Forscher sind in der Substantia reticulofilamentosa Lipide enthalten. Ferner wurden Anteile von Faserprotein aus Cytoplasmafibrillen wie auch anorganische Substanzen, u.zw. Calcium und Magnesium, in ihr nachgewiesen.

4. Stoffwechselvorgänge im Retikulozyten.

In engem Zusammenhang mit der Reifung und dem sich dabei wandelnden Bild der Substantia reticulofilamentosa stehen die Stoffwechselvorgänge im Retikulozyten. Die Tatsache, daß die basophile Substanz im Stadium des reifen Erythrozyten nicht mehr erzeugbar ist, weist darauf hin, daß während der Reifung bestimmte Abbau- bzw. Umbauvorgänge ablaufen müssen. R a p o p o r t (22) hat bei Versuchen mit Retikulozyten in vitro das Verschwinden der Substantia granulofilamentosa bei verschiedenen Konzentrationen organischer und anorganischer Lösungen in Anwesenheit von Enzymgiften und Anaerobiose beobachtet. Die Experimente ergaben u.a. eine beschleunigte Abnahme der Retikulozyten in Phosphatlösung im Vergleich mit einer NaCl-Lösung gleicher Konzentration um etwa das Dreifache. Sowohl Anaerobiose wie auch die Einwirkung der Enzymgifte DNP, Cyanid und Jodazetat bewirkten eine deutliche, wenn auch nicht vollständige Hemmung der Reifungsvorgänge der intakten Zellen. Dagegen waren am Hämolystat kaum Wirkungen festzustellen. Glucose-Lösungen bis zu einer bestimmten Konzentration förderten das

Verschwinden der Substantia reticulofilamentosa. Daß die Anwesenheit von Glucose, Phosphat und Sauerstoff die Abnahme der Netzsubstanz in hohem Maße positiv beeinflusst, läßt nach Ansicht des Autors den Schluß zu, daß die oxydative Phosphorylierung für den Abbau der RNS - die im wesentlichen die Substantia reticulofilamentosa bildet - verantwortlich ist.

Der Verfasser verweist in diesem Zusammenhang auf die Beziehung zwischen RNS-Abbau und Abbau des Stromaeiweißes "als erste Phase des zur Globinsynthese führenden Proteinumbaus". R a p o p o r t nimmt somit an, daß auch noch im Retikulozyten der Globinanteil des roten Blutfarbstoffes gebildet wird.

Im Jahre 1950 haben L o n d o n, S h e m i n und R i t t e n b e r g (13) nachgewiesen, daß der unreife, kernfreie Kaninchenerythrozyt in vitro Häm synthetisieren kann. Sie nehmen dieses auch für den menschlichen Retikulozyten an und treten der Auffassung entgegen, die Hämoglobinsynthese sei bei der Entkernung der Normoblasten bereits abgeschlossen. Die Verfasser setzen allerdings voraus, daß der unreife Erythrozyt Globin enthält bzw. in der Lage ist, dieses zu synthetisieren. Nachforschungen bei Enten-Erythrozyten in vitro verliefen nach Aussage der Autoren positiv. Dem steht allerdings die Beobachtung entgegen, daß bei menschlichem Blut in v i t r o keine merkliche Hämsynthese festgestellt wurde.

L o n d o n, S h e m i n und R i t t e n b e r g weisen aber darauf hin, daß von W a t s o n und Mitarbeitern bei Bebrütung von Menschen- und Kaninchenblutproben, die Retikulozyten enthielten, ein merklicher Anstieg von freiem Protoporphyrin registriert wurde. Dieses spricht nach Meinung der Autoren wenigstens z.T. für eine Neubildung von Protoporphyrin.

Die Hb-Bildung nimmt vermutlich eine zentrale Stellung im Stoffwechselgeschehen des Retikulozyten ein. F i c h s e l

und Mitarbeiter konnten nachweisen (5), daß der mittlere Hb-Gehalt des Retikulozyten etwa 65-85 % höher liegt, als bei der ausgereiften roten Blutzelle. Wie ihre Versuche ergaben, enthalten Zellen der jungen Reifungsstadien zunächst sehr viel geringere Mengen roten Blutfarbstoff; dieser nimmt aber während der Alterung bis auf das Doppelte des Hb-Gehaltes eines Erythrozyten zu. F i c h s e l und Mitarbeiter vermuten, daß über das Stadium IV hinaus, also den Retikulozyten mit nur noch geringen Substanzmengen, eine weitere Phase, die "Proerythrozyten"-Phase, besteht. Sie unterscheidet sich von den reifen roten Blutkörperchen nurmehr durch ihr Volumen und den hohen Hb-Gehalt. Die Autoren legen übrigens ihre Erkenntnisse in dem Sinn aus, daß die Entstehung des Erythrozyten nur durch Teilung im Retikulozytenstadium erklärbar sei; der häufig vertretenen Schrumpfungstheorie für den Übergang vom Proerythrozyten zum Normozyten stehe das große Volumen des Retikulozyten (2-3fach) und der höhere Hb-Gehalt (bis über 2fach) entgegen. Der Entwicklungsgang "1 Normoblast - 1 Retikulozyt - 1 Erythrozyt" ist somit nach Meinung der Verfasser widerlegt.

Offensichtlich läuft das Schwinden der Substantia reticulofilamentosa mit einer Reihe von enzymatischen Vorgängen parallel. K u n z e r und S c h ü t z (12) untersuchten vergleichend die Aminosäuren-Zusammensetzung bei Retikulozyt und Normozyt, konnten jedoch keine faßbaren Unterschiede feststellen. Sie weisen aber darauf hin, daß die Analyse hauptsächlich das stark überwiegende Gerüsteiweiß erfaßt und außerdem über etwaige Strukturänderungen des Stroma-eiweißes nichts aussagt. Die Verfasser halten eine abnehmende Enzymaktivität während der Retikulozytenreifung für sehr wahrscheinlich; diese Tatsache ergebe sich u.a. aus dem Schwund der Atmung sowie der Verminderung der Fähigkeit zur Reduktion von Methämoglobin. "Ob es dabei zu einem Abbau oder lediglich zu einer Inaktivierung (der Enzymeiweiße) kommt, ist noch ungeklärt."

Erst kürzlich berichtete M e r k e r (16) über ein Azofarbstoffverfahren, mit dem er esterasepositive Erythrozyten nachweisen konnte. Die Versuche ergaben eine Abnahme der enzymatischen Aktivität parallel zur Reifung des Erythrozyten. Dabei verschwindet die Substantia reticulofilamentosa schneller als das Enzym, so daß, wie der Autor annimmt, eine bereits entretikulierte, aber noch enzymreiche Erythrozyten-Population besteht. Auch bei Retikulozytenkrisen nach Behandlung von Anämien konnte er einen Bestand von esterasepositiven roten Blutzellen nachweisen, der weit über den der Retikulozyten hinausging. Sie blieben auch länger im Blut nachweisbar als letztere. Wie M e r k e r außerdem beobachten konnte, wirkt die Splenektomie im Sinne einer Verlängerung und Erhöhung der Esteraseaktivität der roten Blutkörperchen, also reifungshemmend.

Schon ältere Untersuchungen ergaben, daß die Zellen der Erythropoese bis hin zum reifen roten Blutkörperchen unter Normalbedingungen weder Glykogen noch ein anderes Polysaccharid enthalten. Wie H e c k n e r (7) berichtet, bestätigen seine Untersuchungen diese Tatsache. Selbst bei Eisenmangelanämien, aplastischen und regeneratorschen Anämien, gleichfalls bei der Perniciosa und der Polycythämie überwogen die glykogenfreien Anteile nach seinen Beobachtungen stark, und die Ergebnisse entsprachen weitgehend denen unter Normalbedingungen. Der Verfasser schließt nicht aus, daß in seltenen Fällen bei verstärkter Neubildung, Eisenmangel und Neoplasmen im Bereich der Erythropoese die Polysaccharidreaktion besonders bei den unreifen Zellformen positiv ausfallen kann. Im übrigen gilt nach seiner Ansicht die Regel, "daß sich der physiologische Aufbau des Hämoglobins in Abwesenheit zytochemisch faßbarer Polysaccharide innerhalb der roten Stammzelle vollzieht."

Was den Gehalt an Fetten des Retikulozyten anbetrifft, so liegen m.W. keine sicheren Angaben darüber vor. E g g s t e i n (4) stellte fest, daß Erythrozyten keine Neutralfette und

vermutlich auch keine freien Fettsäuren enthalten. Da die Zellorganellen fehlen, kommen einzig Membranfette in Frage, die, wie der Verfasser berichtet, in der Unterfraktionierung Kephaline, Lecithine und Cerebroside ergaben.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß der Retikulozyt zur Hämoglobinsynthese fähig ist. Parallel zur Anhäufung des roten Blutfarbstoffes läuft ein Abbau der RNS und eine Verminderung der enzymatischen Potenzen. Die Enzymaktivität ist in ihrem Schwund gegenüber dem der optisch sichtbaren basophilen Substanz verzögert. Der Retikulozyt enthält unter physiologischen Bedingungen keine meßbaren Polysaccharidsubstanzen, auch unter pathologischen Bedingungen ist die Reaktion höchstens schwach positiv. An Fetten scheinen außerdem, die der Membran angehören, keine mit den heutigen Methoden faßbaren Mengen vorzuliegen.

5. Doppelbrechende Strukturen in den Zellen des peripheren Blutes.

Seit einigen Jahren führen M i s s m a h l und Mitarbeiter mikroskopische Untersuchungen im polarisierten Licht an Leukozyten durch (18). Die supravital mit Toluidin angefärbten Zellen zeigen im Protoplasma doppelbrechende Granula. Wie M i s s m a h l durch Kompensator-Messungen feststellen konnte, handelt es sich um Protoplasmabestandteile mit der Struktur konzentrisch übereinanderliegender Kugelschalen. Der anisotrope Farbstoff Toluidinblau bewirkt durch gerichtete Einlagerung in diese Struktur eine Verstärkung und Meßbarkeit der Doppelbrechung. Die zwischen gekreuzten Polars aufleuchtenden Granula konnte M i s s m a h l bezüglich ihrer Größe und Anzahl gruppenmäßig unterteilen; ferner konnte er bezüglich des Verhältnisses der unterschiedlich großen doppelbrechenden Strukturen für den gesunden Menschen Normalwerte aufstellen.

Im Zusammenhang mit den polarisationsoptischen Untersuchungen an den Leukozyten des peripheren Blutes wurden auch in der Substantia granulofilamentosa der Retikulozyten nach Supravitalfärbung mit Toluidinblau doppelbrechende Strukturen festgestellt. Es entstand die Frage nach den Eigenschaften dieser Doppelbrechung und nach eventuellen Gesetzmäßigkeiten ihres Auftretens. Ich habe mir zur Aufgabe gesetzt, diesem Problem nachzugehen und auch etwaige Unterschiede in der Art und der Häufigkeit der Doppelbrechung bei anämisch Erkrankten zu untersuchen.

II. MATERIAL UND METHODIK

1. Blutentnahme und Färbung, mikroskopische Untersuchung

Unter sterilen Bedingungen werden 0,4 ml Na-Zitrat (3,8% nach Westergren) in einer Einmal-Spritze aufgezogen. Der Versuchsperson bzw. dem Patienten werden sodann aus der Armvene 1,6 ml Blut entnommen und beide Teile durch leichtes Schwenken der Spritze gut durchmischt. Das Zitrat-Blutgemisch wird nun mit 0,4 ml Toluidinblau versetzt, nochmals gut durchmischt und dann in einem Zentrifugengläschen für 1 Stunde in ein Wasserbad von 26°C gestellt. Anschließend erfolgt die Anfertigung dünner Ausstriche auf den üblichen Objektträgern. Nach kurzem Antrocknen sind die Präparate untersuchungsfertig.

Als Mikroskop verwende ich das Instrument "Biopol" (E.Leitz). Das Gerät ist mit zwei Polarisationsfiltern versehen, die einzeln ein- und ausschaltbar sind. Polarisator und Analysator sind im Winkel von 90° gekreuzt und bewirken somit eine Auslöschung des vom Spiegel her einfallenden Lichtes. Die Beleuchtung erfolgt mit Hilfe einer Mikroskopierlampe (Typ "Monla", E. Leitz) mit Niedervoltbirne (6 Volt, max. 6 Ampère) für Wechselstrom, die über einen Regeltransformator mit dem Netz verbunden ist. Da es sich um schwache Doppelbrechungserscheinungen handelt, wird die Lampe ohne Mattglasscheibe verwendet. Sie wird so justiert, daß auf dem Planspiegel des Mikroskops der Reflex einen Durchmesser von einigen Zentimetern hat. (27). Der gewünschte Helligkeitsgrad wird durch unterschiedliche Belastung der Lampe geregelt.

Die Betrachtung der Retikulozyten erfolgt mit Ölimmersion und dem Objektiv Fl/Oel 95;1,32 sowie einem Okular mit 10-facher Vergrößerung (beide E.Leitz). Alle hier geschilderten Beobachtungen wurden monokular gemacht.

Bei der Untersuchung werden verschiedene Stellen des gefärbten Ausstriches mit Hilfe des am Mikroskop angeschraubten Kreuztisches eingestellt.

Zur Zählung und typenmäßigen Einteilung der Retikulozyten verwende ich ein Zählgerät, welches parallellaufend neun Einzelregistrierungen erlaubt und außerdem die Gesamtsumme der durchgeführten Zählungen angibt.

Pro Ausstrich untersuche ich 200 Retikulozyten und teile sie der jeweiligen Klasse zu.

2. Gesunde Personen und Patientengut.

- a. Zur Feststellung der Doppelbrechung in den Retikulozyten des peripheren Blutes im Normalfall wurde von 30 klinisch gesunden Personen Venenblut entnommen, in der oben angeführten Weise gefärbt und untersucht. Bei den Normalfällen handelt es sich um Personen im Alter von 18 - 45 Jahren beiderlei Geschlechts.
- b. In der gleichen Weise wurde verfahren bei Patienten ohne spezielle Bluterkrankungen.
- c. Diese Gruppe umfaßt folgende anämisch Erkrankten:

Name	Geb.Dat.	Geschlecht	Diagnose
L.	31.5.26	weibl.	Erworbene hämolytische Anämie
Sch.	14.2.31	männl.	Chronisch kompensierte Hämolyse mit Splenomegalie
P.	16.1.15	weibl.	Geringgradige Hämolyse
H.	26.11.42	männl.	Familiäre sphärozytäre, hämolytische Anämie
V.	18.12.10	weibl.	Dekompensierte Mitralinsuffizienz, Anämie
B.	21.11.11.	weibl.	Panmyelopathie nach Mamma-Ca. Glutathion-Reduktase-Mangel
G.	3.1.16	weibl.	Erworbene hämolytische Anämie
K.	28.1.1886	weibl.	Perniciosa, Diabetes mellitus
B.	21.8.39	weibl.	Marchia fava - Anämie
A.	19.10.36	männl.	Thalassaemia minor

Während bei Gruppe a von jeder Person jeweils nur eine Blutprobe entnommen und untersucht wurde, verfolgte ich bei b und c die Doppelbrechung zum Teil über mehrere Tage.

3. Blut aus der Nabelvene des Neugeborenen.

Da das Blut des Neugeborenen einen relativ hohen physiologischen Retikulozytengehalt hat, untersuchte ich einige Blutproben, die ich unmittelbar nach der Geburt der Nabelvene entnahm. Die Färbung und Untersuchung erfolgte wie in den oben beschriebenen Fällen.

4. Tierblut.

Um einen Vergleich mit tierischem Blut zu ermöglichen, durchmusterte ich je eine Blutprobe vom Hausschwein und vom Kaninchen. Auch hier wurden die Ergebnisse wie in den vorangegangenen Fällen zahlenmässig erfaßt.

5. Retikulozytenzahl.

Neben der Untersuchung auf Doppelbrechung und der klassenmäßigen Unterteilung von je 200 Retikulozyten pro Präparat wurde die Retikulozytenzahl pro 1000 Erythrozyten ausgezählt. Dieses erfolgte mit Hilfe eines Fadenkreuzokulars, wobei jeweils ein Quadrant nach dem anderen durchgezählt wurde.

Von den allgemeinen Befunden sowie besonders auffallenden Strukturen fertigte ich Bleistiftskizzen an. Außerdem wurden Beobachtungen mit Hilfe der "Orthomat"-Kamera (E. Leitz) photographisch festgehalten.

III. UNTERSUCHUNGEN UND ERGEBNISSE.

A. Am Anfang meiner Beobachtungen stand die Durchmusterung verschiedener Ausstriche in wahlloser Folge. Dabei ergaben sich folgende allgemeine Befunde:

1. Die supravital mit Toluidin gefärbten Retikulozyten weisen im Hellfeld eine bläuliche körnige bis fädige

Struktur innerhalb des gelben bis grünlich gefärbten Plasmas auf. Ohne Zweifel handelt es sich dabei um die Substantia reticulofilamentosa (Substantia granulofilamentosa), wie sie auch bei Supravitalfärbung mit beispielsweise Brilliantkresylblau auftritt (C e s a r i s - D e m e l(2), P a p p e n h e i m (21)).

2. Je nach der Menge und der Gestalt der Substanz lassen sich gemäß der Einteilung von H e i l m e y e r die verschiedenen Reifungsstadien erkennen.

Gruppe 0 : Kernhaltige Retikulozyten. Die basophile Substanz umgibt den Kern als dichtes Netz.

Gruppe I : Die basophile Substanz liegt als dichtes Knäuel in der Mitte der Zelle.

Gruppe II : Die basophile Substanz breitet sich als lockeres Netz über die ganze Zelle aus.

Gruppe III: Die Zelle enthält nur noch Netzstücke in unregelmäßiger Verteilung.

Gruppe IV : Körnchen-oder Ausreifungsform. Die vital-färbbare Substanz ist nurmehr in vereinzelt Körnchen oder Fädchen aufzufinden. Diese liegen meist an der Peripherie der Zelle und zeigen häufig nur eine blasse Anfärbung.

3. Bei der Beobachtung zwischen gekreuzten Polars sind im schwach leuchtenden Gesichtsfeld die Retikulozyten der Stadien I, II und III gut, die des Stadiums IV mäßig gut von den umgebenden Erythrozyten zu unterscheiden. Bei letzteren ist daher ein Umschalten auf ein abgeblendetes Hellfeld u.U. notwendig.

b) Das Plasma der Retikulozyten hat grünliche bis schwachgraue Färbung.

c) Die Substantia reticulofilamentosa hebt sich als Netz bzw. Granula oder Fädchen dunkel vom Untergrund ab.

4. Bei einem Teil der Retikulozyten können zwischen gekreuzten Polars h e l l l e u c h t e n d e G r a n u - l a in der Substanzstruktur deutlich erkannt werden.

Der Anblick gleicht dem des gestirnten Himmels.

- a) Diese Granula haben verschieden großen Durchmesser.
- b) Ihre Leuchtstärke ist verschieden.
- c) Größe und Leuchtstärke sind gekoppelt, d.h. mit zunehmender Größe nimmt auch die Leuchtstärke zu.
- d) Die Anzahl der leuchtenden Granula in der Substantia reticulofilamentosa ist verschieden. Sie reicht von 1 bis über 10 pro Zelle.
- e) In wenigen Fällen wurden hell leuchtende kurze Fädchen beobachtet. Sie lagen immer dicht an der Zellmembran.

5. Zur näheren Untersuchung der unter 4. geschilderten Beobachtungen wurde eine Einteilung vorgenommen.

- a) Es wurde eine Einteilung in schwach, mittel und stark leuchtende Granula getroffen. Gemäß 4 c) entspricht die Leuchtstärke der Größe.
- b) Innerhalb der unter 5 a) angeführten drei Gruppen wurde jeweils in der Anzahl der leuchtenden Granula unterschieden, u.zw. auf Grund der Beobachtung, daß ein großer Teil der Retikulozyten mit Doppelbrechung maximal drei leuchtende Granula enthält. Es ergab sich so die Rubrik " 1 - 3 Granula " und " mehr als 3 Granula ".
- c) Bei den leuchtenden Granula starker und mittlerer Klasse (s.5a) wurden die Granula mit erkennbarem Polarisationskreuz gesondert gezählt. Bei den doppelbrechenden Granula schwacher Klassifikation konnte auf diese Unterscheidung verzichtet werden, da bei dieser Größe bzw. Leuchtstärke Polarisationskreuze praktisch nicht mehr erkannt werden.
- d) Bezüglich der Einstufung in "Stark", "Mittel", "Schwach" war das Granulum mit der jeweils größten Leuchtstärke innerhalb der einzelnen Zelle maßgebend.

6. Es wurden 200 Retikulozyten pro Ausstrich an verschiedenen Stellen des Präparates ausgezählt und nach dem unter 5. angeführten Schema unterteilt:

... Nicht doppelbrechende Retikulozyten
... Doppelbrechende Retikulozyten, S t a r k mit Pol.-Kreuz
.....!"....., S t a r k, 1 - 3
.....!"....., S t a r k, mehr als 3
.....!"....., M i t t e l mit Pol.-Kreuz
.....!"....., M i t t e l, 1 - 3
.....!"....., M i t t e l, mehr als 3
.....!"....., S c h w a c h, 1 - 3
.....!"....., S c h w a c h, mehr als 3

7. Die unter 4a) aufgeführten doppelbrechenden kurzen
F ä d c h e n wurden der Rubrik "Stark" zugeordnet, da sie eine
den stark doppelbrechenden Granula entsprechende Leuchtstärke
besitzen.
8. Die nach oben angeführtem Schema getroffene Unterteilung
ergab bei a l l e n untersuchten toluidingefärbten Aus-
strichen folgende Resultate:
- a) Der Anteil der doppelbrechenden Retikulozyten in
Rubrik "S c h w a c h" überwiegt gegenüber dem Anteil
in Rubrik "M i t t e l", in einigen Fällen sind sie gleich.
- b) Der Anteil der doppelbrechenden Retikulozyten in Rubrik
"M i t t e l" überwiegt gegenüber dem Anteil in Rubrik
"S t a r k".
- c) Bei allen Rubriken ("Stark", "Mittel", "Schwach") über-
wiegt der Anteil der Zellen mit 1 - 3 doppelbrechenden
Granula gegenüber dem Anteil der Zellen mit mehr als
3 doppelbrechenden Granula.
- a) - c) zusammengefaßt:
1. "Stark" < "Mittel" < "Schwach"
 2. "1 - 3" > "mehr als 3"
9. Die doppelbrechenden Granula erwiesen sich beim Umschalten
auf Hellfeld als dunkle Granula innerhalb der Substantia
reticulofilamentosa bzw. ihrer Reste. Bei den stärker
leuchtenden Granula ließ sich unter Hellfeld-Beobachtung
eine gegenüber der übrigen Netzsubstanz ins V i o l e t t e
abweichende Färbung erkennen.

B. Beobachtungen an Retikulozyten gesunder Menschen.

Es war die Frage von Interesse, ob sich in Bezug auf die Größe und Häufigkeit der doppelbrechenden Granula bei einer Person eine Einheitlichkeit zeige. Von einem Patienten wurden fünf Ausstriche, die einer Blutentnahme mit nachfolgender, oben angegebener Weiterbearbeitung entstammten, untersucht. Dabei ergaben sich, wie Tabelle 1 zeigt, Übereinstimmungen sowohl im Hinblick auf die Häufigkeit der Doppelbrechung als auch - wenn auch in geringerem Maße - bezüglich ihrer Verteilung auf die Rubriken "Stark", "Mittel", "Schwach".

M i s s m a h l konnte für die Doppelbrechung im Plasma der Leukozyten des peripheren Blutes nach Supravitalfärbung mit Toluidinblau beim gesunden Menschen Normalwerte aufstellen. Es ergab sich die Frage, ob die Häufigkeit der Doppelbrechung in den Retikulozyten des peripheren Blutes des Gesunden innerhalb gewisser Grenzen liege. Ich untersuchte supravital mit Toluidinblau gefärbtes Blut von dreißig klinisch gesunden Personen, u.zw. im Alter von 19 - 45 Jahren und von beiderlei Geschlecht. Das Ergebnis der Zählung zeigt Tabelle 2. Schon ein kurzer Überblick über die Wertetafel zeigt, daß im Durchschnitt etwa 40 von 200, d.h. ca. 20 % der Retikulozyten doppelbrechende Granula zeigen. Die statistische Durchrechnung ergab:

$n = 30$	Zahl der Fälle
$\sum x = 4799$	Summe der Einzelwerte
$\bar{x} = 159,97$	Mittelwert (der nicht doppelbrechenden Retikuloz.)
$\sum x^2 = 773\,779$	Summe des Quadrates der Einzelwerte
$\bar{x} \sum x = 767\,696,03$	Produkt aus Mittelwert und Summe der Einzelwerte

$\sigma^2 = 209,758$	Quadrat der Standardabweichung
$\sigma = 14,49$	Standardabweichung

Abgesehen von den unter Punkt 8 aufgeführten Beobachtungen bezüglich der Häufigkeit von starker, mittlerer und schwacher Doppelbrechung ist aus Tab. 2 zu ersehen, daß die

unter Punkt 6 erwähnten doppelbrechenden Granula mit sichtbarem Polarisationskreuz im Durchschnitt nur sehr selten auftraten.

C. Beobachtungen an Retikulozyten anämisch erkrankter Personen.

Wie oben schon erwähnt wurde, verfolgte ich die Doppelbrechungserscheinungen in den Retikulozyten bei einigen Anämiefällen über mehrere Tage. Im Folgenden sollen zunächst die Beobachtungen bei Patienten mit hämolytischer Anämie geschildert werden.

1. L. (Krankenblatt Nr. 13480)

Wie Tabelle 3 zeigt, ist die Anzahl der doppelbrechenden Granula sehr gering, u.zw. liegt sie unter dem Normalbereich. Vergleicht man (Kurve I) das Auftreten der Doppelbrechung mit der Retikulozytenzahl pro 1000 Erythrozyten, so sieht man, daß bei Beginn der Beobachtung (18.XII.63) der Retikulozytenstand sehr hoch ist, die Doppelbrechung dagegen sehr niedrig liegt; "Mittel" und "Stark" sind negativ. Am Punkt des niedrigsten Retikulozytenstandes des peripheren Blutes (13.I.64) tritt die Doppelbrechung in allen drei Stärkegraden auf; sie ist also relativ vermehrt und bleibt bis zum Abschluß (20.III.64) bei etwas ansteigenden Retikulozytenzahlen in etwa dem Maße erhalten.

2. V. (Krankenblatt Nr. 14525)

Aus Tabelle 4 ist ersichtlich, daß die Doppelbrechung anfangs (5.VI.64) knapp unter dem Normalbereich liegt (Kurve II). Etwa gleichzeitig mit dem starken Abfall der Retikulozytenzahl im peripheren Blut (25.VI.) nimmt die Doppelbrechung der drei Rubriken "Schwach", "Mittel" und "Stark" zu bis auf normale Anteile. Am Ende der Beobachtung ist die Doppelbrechung relativ am stärksten bei niedrigstem Retikulozytenstand.

3. Ga. (Krankenblatt Nr. 15459)

Die Doppelbrechungswerte (Tab.5; Kurve III) liegen während eines großen Teiles der Beobachtungszeit an

Tabelle 1:

Die Doppelbrechung in den Retikulozyten bei fünf Ausstrichen von einer Blutentnahme.

	Nicht d.brech.	Stark m. Polkr	Stark 1 - 3	Stark >3	Mittel m. Polkr	Mittel 1 - 3	Mittel >3	Schwach 1 - 3	Schwach >3	Summe	Retikul. %
J. 671	90	5	10	10	0	25	10	25	25	200	6
J. 672	100	6	10	6	0	28	10	25	15	200	5
J. 673	104	5	10	3	0	25	6	36	11	200	9
J. 674	102	2	13	1	2	24	4	41	11	200	6
J. 675	100	6	6	2	1	25	2	46	12	200	8

Tabelle 2
Die Doppelbrechung bei den dreißig Normalfällern.

	Nicht d.br.	Stark m.Polkr.	Stark 1-3	Stark >3	Mittel m.Polkr.	Mittel 1-3	Mittel >3	Schwach 1-3	Schwach >3	Summe	Ret. ‰
S.	169	0	3	0	0	5	0	23	0	200	15
M.	159	5	1	0	5	9	0	18	2	200	12
G.	151	0	3	1	1	10	0	33	1	200	10
L.	173	0	3	1	0	8	0	15	0	200	9
G.	161	3	3	0	1	11	0	20	1	200	9
D.	162	0	1	0	0	8	0	29	0	200	10
E.	156	0	1	0	0	14	0	29	0	200	11
M.	123	1	7	0	2	21	3	40	4	200	17
E.	146	0	2	0	0	14	3	35	0	200	7
F.	174	0	3	0	0	6	0	17	0	200	20
F.	164	0	2	0	0	10	0	23	1	200	9
G.	153	1	0	0	0	16	0	29	1	200	11
G.	137	1	4	0	1	16	2	39	0	200	13
G.	150	2	7	0	3	13	0	24	1	200	5
H.	150	0	5	1	1	17	0	26	0	200	11
K.	163	0	3	0	0	14	0	20	0	200	12
L.	176	0	1	0	0	5	1	17	0	200	11
N.	153	1	3	0	0	21	0	22	0	200	13
K.	130	1	4	1	0	31	3	30	0	200	13
M.	153	1	2	0	2	12	0	30	0	200	9
K.	150	1	3	0	0	11	0	32	3	200	12
M.	190	0	0	0	0	5	1	4	0	200	12
E.	170	0	2	0	0	7	0	21	0	200	4
R.	169	0	1	0	1	11	0	18	0	200	17
R.	168	0	5	0	1	5	0	20	1	200	9
S.	167	0	3	0	1	9	0	20	0	200	15
W.	168	0	1	0	0	9	0	22	0	200	6
V.	161	0	1	0	1	8	0	28	1	200	10
A.	173	0	2	0	0	6	2	16	1	200	11
M.	180	0	1	0	0	7	0	12	0	200	13

der unteren Grenze des Normalbereiches. Zeitlich etwas verzögert mit dem Absinken der Retikulozytenzahl ist ein Anstieg der Doppelbrechung schwachen und mittleren Grades festzustellen.

Von den vier folgenden Patienten mit hämolytischer Anämie wurden Einzelblutproben auf Retikulozyten-Doppelbrechung untersucht:

- 4. Sch. (Krankenblatt Nr. 13 756)
- 5. P. (Krankenblatt Nr. 14 481)
- 6. H. (Krankenblatt Nr. 8734)
- 7. B (Krankenblatt Nr. 15 937)

Wie Tabelle 6 zeigt, liegt die Doppelbrechung in allen vier Fällen - bei drei von ihnen wurden jeweils zweimal 200 Retikulozyten untersucht - unter dem Normalbereich. Bei H. ergibt sich bei einer Blutprobe, die nach Milzextirpation entnommen wurde, eine sehr starke Doppelbrechung (s. Tb. 6), jedoch ist nicht klar, ob die dabei beobachteten doppelbrechenden Granula mit den bisher beschriebenen identisch sind.

- 8. B. (Krankenblatt Nr. 12 091)

Die ermittelten Werte (s. Tabelle 7 und Kurve IV) liegen während der gesamten Beobachtungszeit intermittierend im und unter dem Normalbereich. Sie stehen anfangs (17.X.) an seiner unteren Grenze, wobei allerdings die Gruppe "Stark" negativ ist. Diese steigt am 11.XI. etwas an bei gleichbleibender Höhe der Gruppen "Mittel" und "Schwach". Anschließend kommt es aber zu einem Abfall der Doppelbrechung in allen drei Klassen bis auf sehr geringe Werte (25.XI., 28.XI.) Vergleicht man mit diesem Verlauf die Änderung des Retikulozytengehaltes des peripheren Blutes, so zeigt sich etwa parallellaufend ein ziemlich schneller Abstieg der vitalgranulierten Erythrozyten. Vom 28.XI. an nimmt der Anteil an Retikulozyten des peripheren Blutes wieder zu, etwas verzögert zeigt sich mit einigen Schwankungen eine Zunahme der Doppelbrechung bis auf normale Werte,

wobei allerdings der Anteil "Stark" wieder etwas absinkt.

Im Gegensatz zu den oben geschilderten drei Verläufen von hämolytischer Anämie (1.-3.) scheint in diesem Fall einer Marchia fava - Anämie bei hoch liegendem peripheren Retikulozytenstand die Doppelbrechung stärker, d.h. im Normalbereich liegend, zu sein, während sie in Zeiten des Niedrigstandes (unter 50 %) auf sehr geringe Werte absinkt. Die Gruppe "Stark" zeigt relativ hohe Werte bei einem Retikulozytenstand zwischen ca. 70 % und 120 %, während sie bei höheren bzw. niedrigeren Retikulozytenzahlen sehr gering oder sogar negativ ist.

Nachfolgend werden die Beobachtungen an den Retikulozyten eines Patienten mit p e r n i z i ö s e r Anämie geschildert:

9. K. (Krankenblatt Nr. 13 807)

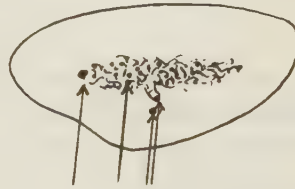
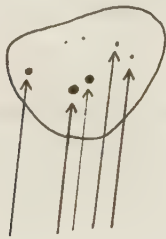
Tabelle 8 und Kurve V zeigen die Werte von neun in kürzeren Abständen entnommenen Blutproben. Während der Beobachtungszeit erfolgte eine B₁₂ - Therapie. Die Anzahl der doppelbrechenden Granula liegt anfänglich knapp unter dem Normalbereich. Parallellaufend mit der Retikulozytenkrise scheint eine gewisse Zunahme der Doppelbrechung in allen drei Graden (21.II., 25.II.) bis auf Normalhöhe einzutreten. Die Doppelbrechung sinkt mit Abfall der peripheren Retikulozyten wieder unter den Normalbereich (2.III., 6.III.), anschließend ist ein leichter Wiederanstieg (13.III., 20.III.) festzustellen, der bei weiter sinkendem Retikulozytenanteil des Blutes gleich und im Normalbereich bleibt.

Eine direkte Beziehung zwischen Retikulozytenzahl des peripheren Blutes und Art und Häufigkeit der Doppelbrechung lässt sich in diesem Fall schwerer erkennen als bei den zuvor geschilderten Verläufen.

Es wurde ferner bei einem Patienten mit T h a l a s s a e m i a m i n o r das periphere Blut auf Doppelbrechung in Retikulozyten hin untersucht:

10. A. (Krankenblatt Nr. 16 316)

Tabelle 9 zeigt die Werte der Doppelbrechung, die weit über der Norm liegt. Auffallend ist die relativ hohe Zahl in der jeweiligen Untergruppe "mehr als 3", besonders bei "Schwach". Die doppelbrechenden Granula liegen in und an der Substantia reticulofilamentosa, z.T. als viele einzelne Granula. Fraglich ist, ob diese mit den bisher beschriebenen doppelbrechenden Strukturen identisch sind. Im Hellfeld zeigt sich die Substantia reticulofilamentosa auffallend gekörnt:



(Die Pfeile geben doppelbrechende Granula an.)

- D. Den hier beschriebenen Beobachtungen an Retikulozyten anämisch erkrankter Personen stelle ich Beobachtungsreihen an Retikulozyten von zwei Patienten ohne direkte Bluterkrankung gegenüber. Beide haben leicht bis mäßig erhöhte Retikulozytenzahlen im peripheren Blut.

1. G8. (Krankenblatt Nr. 12 883)

Cardiale Dekompensation bei kombiniertem Mitralvitium;
Emphysebronchitis.

Aus Tabelle 10 ist ersichtlich, daß die Retikulozyten-Doppelbrechung bei allen in kürzeren Abständen erfolgten Blutentnahmen etwa konstant bleibt und weit über dem Normalbereich liegt. Kurve VI läßt dabei eine gewisse Parallelität der mittleren und starken Doppelbrechung mit den Schwankungen der Retikulozytenzahl im peripheren Blut erkennen, der geringgradig gegenüber dem Normalwert (5-12 %) erhöht ist.

2. W. (Krankenblatt Nr. 12 388)

Chronische Niereninsuffizienz bei dysplastischer Niere links.

Die Doppelbrechung in den Retikulozyten liegt bei diesem Patienten durchweg unter dem Normalbereich (Tabelle 11; Kurve VII). Die Gruppe "Stark" ist bei jeder Blutkontrolle negativ, auch die übrigen Gruppen "Mitte" und "Schwach" wechseln nur in engen Grenzen. Die Retikulozytenzahl schwankt um $\pm 10\%$ und liegt über 50% . Der Kurvenverlauf läßt keine Beziehung zwischen Retikulozytenzahl einerseits und Doppelbrechung andererseits erkennen.

E. Neben dem Blut von gesunden Menschen sowie von Patienten mit Anämien oder anderen Erkrankungen untersuchte ich auch Proben aus der Nabelvene des Neugeborenen. Dabei ging ich von der Tatsache aus, daß kurz nach der Geburt die Retikulozytenzahl des peripheren Blutes relativ hoch ist, nämlich ca. $40 - 60\%$. Bei der Beobachtung des supravital mit Toluidin gefärbten Blutes zeigte sich, daß die Doppelbrechung in den Retikulozyten bei sämtlichen Ausstrichen sehr stark war. Einen zahlenmäßigen Überblick gibt Tabelle 12. Sie zeigt, daß der Teil der Zellen mit doppelbrechenden Granula ca. $50 - 80\%$ beträgt, im Normalfall dagegen nur $15 - 30\%$. Die Granula imponieren im Hellfeld als tiefblaue bis violette Anteile der Substantia granulofilamentosa mit teils rundem, teils viereckigem, aber auch halbrundem und länglichrundem Umriss. Zwischen gekreuzten Polars fällt auf, daß einige Zellen mit mehreren sehr stark doppelbrechenden Granula auftreten, was bei dem vorangegangenen Beobachtungsgut praktisch nicht der Fall war. Bemerkenswert ist ausserdem, daß gelegentlich die Substantia reticulofilamentosa nur als zarter blauer Schleier und nicht als fädige bis körnige Struktur erscheint, so daß die doppelbrechenden Granula als einzige deutlich begrenzt hervortreten.

F. Als Beispiel der Doppelbrechung in tierischen Retikulozyten nach Supravitalfärbung mit Toluidinblau gibt Tabelle 13 die Zahlenwerte für Blutproben vom Kaninchen und vom Hausschwein

an. Bei ersterem entspricht die Doppelbrechung etwa der der untersuchten gesunden Menschen, d.h. sie liegt etwa bei 20 - 30 %. Im Schweineblut konnte ich einen sehr großen Anteil doppelbrechender Retikulozyten feststellen. Die Art der Doppelbrechungserscheinungen glich im übrigen in beiden Fällen der des Menschen und ließ sich gut mit dem als Grundlage dienenden Aufteilungsschema (s.S.23) erfassen.

Beispiel eines Retikulozyten
mit der Doppelbrechung

a.) "Mittel, >3" :

bei 1: mittlere Doppelbrechung

bei 2: schwache Doppelbrechung

bei 3: " "

bei 4: " "

Substantia reticulofilamentosa:

Stadium IV; körnig.

(Präparat: J.671)

b.) "Schwach, >3" :

bei 1. bis 5.: schwache Doppel-
brechung

Substantia reticulofilamentosa:

Stadium III; schleifig-körnig

(Präparat: J.672)

c.) "Schwach, 1 - 3" :

bei 1. und 2. : schwache Doppel-
brechung

Substantia reticulofilamentosa:

Stadium IV; körnig

(Präparat: J.671)

d.) "Schwach, 1 - 3" :

bei 1.: schwache Doppelbrechung

Substantia reticulofilamentosa:

Stadium III; schleifig

(Präparat: J.671)



Beispiel eines Retikulozyten
mit der Doppelbrechung

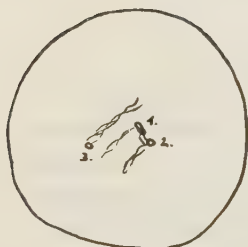
e.) "Stark, 1 - 3 (mit Polarisationskreuz)":

bei 1.: starke Doppelbrechung (Pol.Kr.)

Substantia reticulofilamentosa:

Stadium III; schleifig-schollig

(Präparat: J.671)



f.) "Stark, 1 - 3" :

bei 1.: starke Doppelbrechung

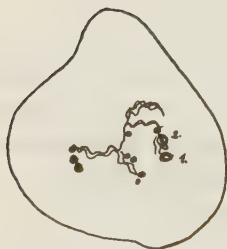
bei 2.: mittlere Doppelbrechung

bei 3.: " "

Substantia reticulofilamentosa:

Stadium III(-IV); fädig

(Präparat: J.671)



g.) "Mittel, 1 - 3" :

bei 1.: mittlere Doppelbrechung

bei 2.: schwache Doppelbrechung

Substantia reticulofilamentosa:

Stadium III; schleifig-körnig

(Präparat: J.671)



h.) "Schwach, 1 - 3" :

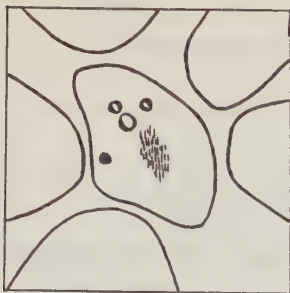
bei 1.: schwache Doppelbrechung

Substantia reticulofilamentosa:

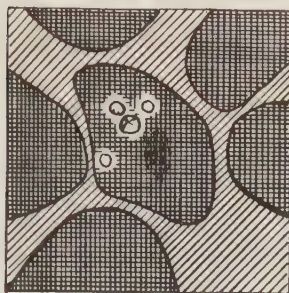
Stadium III; schleifig

(Präparat: J.671)

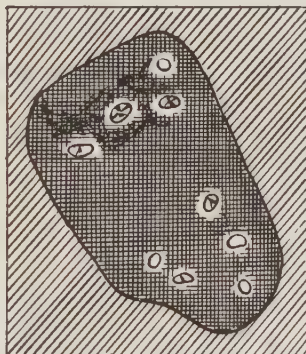
1. Hellfeld



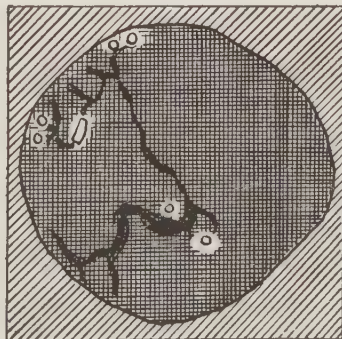
2. Zwischen gekreuzten Polars



Beispiel einer Zelle mit vier stark doppelbrechenden Granula und undeutlicher Substantia reticulofilamentosa (Nabelschnurblut)



Sonderfall eines Retikulozyten mit zahlreichen stark doppelbrechenden Granula und sehr feiner Substantia reticulofilamentosa (Nabelschnurblut)



Halbschematische Darstellung eines Retikulozyten, Stadium III
n. Heilmeyer; Doppelbrechung: " Stark, 3 " (Nabelschnurblut)

Tabelle 3: L., Krankenblatt Nr.13 480

Datum	Nicht d.brech.	Stark m.Polkr.	Stark 1 - 3	Stark > 3	Mittel m.Polkr.	Mittel 1 - 3	Mittel > 3	Schwach 1 - 3	Schwach > 3	Summe	Retikuloz. ‰
18.12.63	190	0	0	0	0	0	0	10	0	200	222
19.12.63	186	0	0	0	0	0	0	14	0	200	182
20.12.63	189	0	0	0	0	0	0	11	0	200	182
13. 1.64	184	0	1	0	0	5	0	10	0	200	145
17. 1.64	185	0	0	0	0	1	0	14	0	200	150
20. 3.64	189	0	0	0	0	2	1	8	0	200	152

Tabelle 4: V., Krankenblatt Nr.14 525

Datum	Nicht d.brech.	Stark m.Polkr.	Stark 1 - 3	Stark > 3	Mittel m.Polkr.	Mittel 1 - 3	Mittel > 3	Schwach 1 - 3	Schwach > 3	Summe	Retikuloz. ‰
5. 6.64	179	0	1	0	0	6	3	11	0	200	79
8. 6.64	170	0	1	0	0	13	0	16	0	200	107
22. 6.64	178	1	0	0	0	8	0	12	1	200	88
25. 6.64	169	0	0	0	0	7	2	14	8	200	86
3. 7.64	164	2	1	0	1	12	1	19	0	200	40
9. 7.64	159	1	0	0	1	12	1	25	1	200	28
14. 7.64	155	1	1	0	1	13	3	26	0	200	20

Tabelle 5: Ga.,Krankenblatt Nr.15459

Datum	Nicht d.- brechend	Stark m. Polkr.	Stark 1 - 3	Stark >3	Mittel m. Polkr.	Mittel 1 - 3	Mittel >3	Schwach 1 - 3	Schwach >3	Summe	Retikuloz. %
21.10.64	177	1	0	0	0	7	1	14	0	200	55
22.10.64	173	0	0	0	0	7	1	17	2	200	74
23.10.64	177	0	0	0	0	7	0	15	1	200	74
30.10.64	180	0	0	0	0	4	0	16	0	200	30
10.11.64	160	0	0	0	0	10	0	30	0	200	28

Tabelle 6: Sch.,Krankenblatt Nr. 13 756

P. , " Nr. 14 481
H. , " Nr. 8 734
Bu. , " Nr. 15 937

	Datum	Nicht d.- brechend	Stark m. Polkr.	Stark 1 - 3	Stark >3	Mittel m. Polkr.	Mittel 1 - 3	Mittel >3	Schwach 1 - 3	Schwach >3	Summe	Retikuloz. %
<u>Sch.</u>	a. 22.4.64	192	0	0	0	0	1	0	7	0	200	42
	b. "	190	0	1	0	0	0	0	9	0	200	"
<u>P.</u>	a. 30.4.64	183	0	0	0	0	3	0	13	1	200	7
	b. "	189	0	0	0	0	0	0	11	0	200	"
<u>H.</u>	a. 3.6.64	189	0	0	0	0	3	0	8	0	200	62
	b. "	194	0	1	0	0	2	0	3	0	200	"
<u>B.</u>	5.6.64	175	2	1	0	2	4	0	14	2	200	45
	n.Milz- Extirp.	72	12	11	0	7	46	1	48	3	200	-
	10.11.64	193	0	0	0	0	3	0	4	0	200	32

Tabelle 7: Ba., Krankenblatt Nr.12 091

Datum	Nicht d. Brech.m. Polkr.	Stark	Stark 1 - 3	Stark >3	Mittel m. Polkr.	Mittel 1 - 3	Mittel >3	Schwach 1 - 3	Schwach >3	Summe	Retikulo- zyten %
17.10.63	175	0	0	0	0	4	0	21	0	200	208
24.10.63	175	0	0	0	0	5	0	20	0	200	191
30.10.63	171	0	0	0	0	3	1	24	1	200	213
4.11.63	172	0	0	0	0	4	1	23	0	200	128
11.11.63	160	1	4	0	0	7	0	27	1	200	75
18.11.63	168	2	0	0	0	6	0	22	2	200	64
25.11.63	183	0	0	0	0	2	0	14	1	200	40
28.11.63	187	0	0	0	0	2	0	11	0	200	36
11.12.63	177	0	0	0	1	2	0	20	0	200	86
16.12.63	159	1	2	0	1	10	1	24	2	200	107
20.12.63	172	0	4	0	0	2	0	20	2	200	91
5. 2.64	159	0	1	0	0	8	2	28	2	200	131

Tabelle 8: K.,Krankenblatt Nr.13 807

Datum	Nicht d.- brechend	Stark m. Polkr.	Stark 1 - 3	Stark >3	Mittel m. Polkr.	Mittel 1 - 3	Mittel >3	Schwach 1 - 3	Schwach >3	Summe	Retikuloz. ‰
5.2.64	181	0	0	0	0	3	1	13	2	200	71
6.2.64	177	0	1	0	0	4	0	18	0	200	60
21.2.64	171	0	1	0	0	2	0	22	4	200	
25.2.64	162	0	1	0	1	11	0	23	2	200	115
2.3.64	174	0	0	0	0	8	0	17	1	200	42
6.3.64	179	0	0	0	0	5	0	16	0	200	23
13.3.64	153	0	0	0	1	10	0	35	1	200	28
20.3.64	161	0	2	0	0	8	0	26	3	200	12
25.3.64	159	0	2	0	0	4	1	32	2	200	8

Tabelle 9: siehe nächste Seite!

Tabelle 10: Gö.,Krankenblatt Nr.12 883

Datum	Nicht d.- brechend	Stark m. Polkr.	Stark 1 - 3	Stark >3	Mittel m. Polkr.	Mittel 1 - 3	Mittel >3	Schwach 1 - 3	Schwach >3	Summe	Retikuloz. ‰
17.10.63	109	1	6	0	1	14	1	65	3	200	16
18.10.63	105	0	3	0	1	8	0	76	7	200	18
21.10.63	72	9	11	2	1	23	7	62	13	200	27
22.10.63	97	2	3	0	0	18	4	71	5	200	19
23.10.63	105	0	4	1	0	13	4	68	5	200	14
24.10.63	97	0	7	0	0	15	2	72	7	200	25
28.10.63	89	2	8	2	0	26	3	64	6	200	22
29.10.63	99	0	4	1	2	16	3	72	3	200	17
30.10.63	99	1	5	1	1	20	6	61	6	200	19
31.10.63	116	0	4	1	0	11	2	65	1	200	14

Tabelle 9: A.,Krankenblatt Nr.16 316

Datum	Nicht d.- brechend	Stark m. Polkr.	Stark 1 - 3	Stark > 3	Mittel m. Polkr.	Mittel 1 - 3	Mittel > 3	Schwach 1 - 3	Schwach > 3	Summe	Retikuloz. %
17. 1.65	87	0	2	3	0	27	6	50	25	200	36
"	84	0	2	1	0	26	12	65	10	200	48

Tabelle 10:siehe vorige Seite!

Tabelle 11: W.,Krankenblatt Nr.12 388

16.10.63	185	0	0	0	0	1	0	14	0	200	51
17.10.63	186	0	0	0	0	2	0	12	0	200	54
18.10.63	188	0	0	0	0	2	0	10	0	200	51
21.10.63	186	0	0	0	0	3	0	11	0	200	60
22.10.63	191	0	0	0	0	0	0	9	0	200	56
23.10.63	191	0	0	0	0	0	0	9	0	200	55
28.10.63	190	0	0	0	0	2	0	8	0	200	53
29.10.63	184	0	0	0	0	2	0	14	0	200	49
30.10.63	186	0	0	0	0	1	0	13	0	200	62

Tabelle 12: Nabelschnurblut von vier Neugeborenen

1.	70	4	4	1	1	34	8	62	16	200	44
2.	89	1	2	1	3	28	12	60	4	200	44
3.	96	4	2	0	2	29	5	62	0	200	42
4.	40	4	4	2	6	47	11	75	11	200	64

Tabelle 13: Tierblut

Kaninchen	154	0	3	0	0	10	0	33	0	200
Schwein	47	3	5	2	1	30	15	74	23	200

D. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die Retikulozyten im peripheren Blut von dreißig gesunden Menschen zeigten in 13 - 27,5 % (Bereich der Standardabweichung, 26-55 Zellen auf 200) doppelbrechende Granula im Protoplasma nach Supravitalfärbung mit Toluidinblau. In allen Fällen ließ sich eine Unterteilung in die Stärkegrade "Stark", "Mittel" und "Schwach" sowie die Trennung "1 - 3" bzw. "mehr als 3" im Hinblick auf die Anzahl der leuchtenden Granula pro Zelle durchführen. Es entsteht die Frage, worauf die geschilderten Doppelbrechungserscheinungen beruhen.

Die zwischen gekreuzten Polars aufleuchtenden Granula in den Retikulozyten sind denen von M i s s m a h l und Mitarbeitern (18) beobachteten doppelbrechenden Strukturen in den Leukozyten des peripheren Blutes optisch sehr ähnlich. Lediglich der Durchmesser der Granula ist in den unreifen Erythrozyten geringer, Polarisationskreuze treten seltener auf. M i s s m a h l konnte mit Kompensatormessungen nähere Einzelheiten über den Feinbau der von ihm beobachteten doppelbrechenden Zellbestandteile in den Leukozyten ermitteln. Es darf angenommen werden, daß es sich bei den doppelbrechenden Strukturen in den Retikulozyten - ähnlich denen in den weißen Blutzellen - um runde Protoplasmabestandteile von konzentrischer Struktur handelt. Diese haben in irgendeiner Weise an der Bildung der Substantia granulofilamentosa teil. Bei der Supravitalfärbung wird der Farbstoff, wie M i s s m a h l feststellen konnte, gerichtet eingelagert, u.zw. geschieht der Einbau mit der längsten Achse des Farbstoffteilchens Toluidinblau senkrecht zu den Radien der Struktur. Das Auftreten von Polarisationskreuzen in den doppelbrechenden Strukturen der Retikulozyten nach der erwähnten Supravitalfärbung weist auf dieses Verhalten des Farbstoffes hin.

Um zu klären, wie sich die Doppelbrechung innerhalb der Retikulozyten-Reifungsstufen verteilt, ordnete ich 600 Retikulozyten aus 3 Präparaten von hämolytisch-anämisch Erkrankten den H e i l m e y e r 'schen Stadien I, II, III und IV zu.

Bekanntlich tauchen die unreifen Formen I und II nur bei verstärkter Retikulozytenausschwemmung im peripheren Blut auf. Die folgenden Zahlen geben einen Überblick:

	I		II		III		IV	
	Nicht d.br.	d.br.	Nicht d.br.	d.br.	Nicht d.br.	d.br.	Nicht d.br.	d.br.
V.	9	5	12	7	60	22	96	13
B.	16	8	21	5	75	17	62	3
L.	12	6	30	2	94	5	20	0
Summe :	37	19	63	14	229	44	178	16/600

Retikulozytenwerte: V. = 88 ‰

B. = 160 ‰

L. = 182 ‰

Demnach ist der Anteil doppelbrechender Strukturen bei den unreifen Formen häufiger als bei den reiferen. Während er bei Stadium I etwa die Hälfte der Zellen einnimmt, treten bei Stadium III die Zellen ohne Doppelbrechungserscheinungen im Durchschnitt fünfmal häufiger auf. Insgesamt überwiegen aber bei allen 3 Fällen die Retikulozyten der Reifungsstadien III und IV gegenüber den unreiferen Formen I und II.

Mehrere Proben Nabelvenen-Blut von Neugeborenen färbte ich nach der eingangs angeführten Methode mit Toluidinblau und behandelte sie 45 Min. vor bzw. bei der Anfärbung mit einer Ribonuklease-Lösung von 1 : 10 000. Auch im Wiederholungsfall ließ sich zahlenmässig keine eindeutige Änderung im Auftreten der doppelbrechenden Strukturen feststellen.

Wie anfangs schon gesagt wurde, hat die beobachtete Doppelbrechung vermutlich ihre Ursache in der gerichteten Einlagerung von Farbstoffteilchen des Toluidinblau in protoplasmatischen Strukturen, die eine konzentrische oder ähnliche Anordnung aufweisen. G r u n d m a n n (6) hat in seinem Buch konzentrisch lamelläre Schichtungen des endoplasmatischen Retikulums beschrieben. Sie wurden in der Speicheldrüse der Chironomus-Larve gefunden. Es liegt m.W. kein ähnlicher Befund für jugendliche

Erythrozyten vor; eine derartige submikroskopische Anordnung käme für die gerichtete Einlagerung von Farbstoffteilchen in Frage.

In einem Gespräch über die Frage, wo die Ursache für die häufige Doppelbrechung in den Retikulozyten des Neugeborenenblutes liegen könne, wies mich Herr Dr. K l e i h a u e r, Universitätskinderklinik Tübingen, auf die Möglichkeit hin, daß als Struktur für Einlagerung des Farbstoffes bei der Supravitalfärbung überschüssig gebildete γ_2 - bzw. β_2 - Ketten der Globinkomponente bei der Bildung des roten Blutfarbstoffes in Frage kommen.

Es wäre seiner Ansicht nach aufschlußreich, die Doppelbrechungserscheinungen bei Eisenmangel und dem damit verbundenen erhöhten freien Globin-Anteil zu untersuchen.

Eine weitere Möglichkeit sieht Herr Dr. K l e i h a u e r in dem im Neugeborenen-Alter sehr starken Anteil an Hämoglobin F im Erythrozyten, welches im Laufe der Kindheit gegen Erwachsenen-Hämoglobin ausgetauscht wird. Um einen eventuellen Einfluß des Hb F auf die beschriebenen Doppelbrechungserscheinungen festzustellen, könnte man das Erwachsenen-Hämoglobin mit Hilfe der von B e t k e und K l e i h a u e r entwickelten Methode eluieren und dann die Doppelbrechung überprüfen. Bekanntlich kommt Hb F in geringen Mengen auch im Blut des Erwachsenen vor.

Die Frage, warum nur ein bestimmter Prozentsatz der Retikulozyten des peripheren Blutes nach Supravitalfärbung mit Toluidinblau doppelbrechende Strukturen enthält, kann bis jetzt nicht beantwortet werden. Bemerkenswert ist, daß nach eigenen Beobachtungen der Anteil beim gesunden Menschen innerhalb eines Bereiches von 10 - 30 % liegt. Warum bei den oben angeführten Fällen hämolytischer Anämie die Doppelbrechung durchweg geringer ist als im Normalfall, ist ebenfalls unklar. Auch für die Beobachtung, daß bei

Patienten ohne eigentliche pathologische Veränderungen der Erythropoese die Doppelbrechung in den Retikulozyten gelegentlich stärker als normal auftritt, fehlt eine Erklärung.

Die vergleichenden Untersuchungen an Retikulozyten vom Kaninchen und Hausschwein lassen vermuten, daß die beobachteten doppelbrechenden Strukturen allgemein im Säugetierblut auftreten. Die Tatsache, daß sie im Erythrozyten, der keinerlei Reste der Substantia reticulofilamentosa mehr enthält, nicht auftreten, beweist, daß sie eng mit der basophilen Struktur der jungen roten Blutkörperchen in Zusammenhang stehen und ein Ausdruck des Reifungsvorganges sind.

Die Kurven I, II, III und IV von Fällen hämolytischer Anämie lassen Beziehungen zwischen der Zahl der Retikulozyten im peripheren Blut und der Häufigkeit der Doppelbrechung vermuten, für die eine fundierte Erklärung noch aussteht.

V. ZUSAMMENFASSUNG.

1. Nach Supravitalfärbung mit Toluidinblau treten in den Retikulozyten des peripheren Blutes doppelbrechende Strukturen auf.
2. Die doppelbrechenden Strukturen haben grundsätzlich Granula-Form und zeigen sich im Hellfeld als Anteile der Substantia reticulofilamentosa mit tiefblauer bis violetter Färbung. Ein Einteilungsschema für die Stärke und Häufigkeit der zwischen gekreuzten Polarisationsfiltern leuchtenden Granula in der einzelnen Zelle ist in allen untersuchten Fällen anwendbar.
3. Bei Blutproben von dreißig gesunden Menschen liegt der Anteil der Retikulozyten mit doppelbrechenden Strukturen bei einem Mittelwert von 20,02 % (Standardabweichung 7,25%).
4. Bei vier Fällen von hämolytischer Anämie und einem Fall von perniziöser Anämie werden Doppelbrechung und Retikulozytenzahl über mehrere Tage verfolgt. Bei den hämolytischen Anämien zeigen sich gegenläufige bzw. parallellaufende Ver-

Änderungen der beiden Größen.

5. Bei vier weiteren Fällen von hämolytischer Anämie wie auch bei den unter Punkt 4 erwähnten liegt der Prozentsatz der Zellen mit Doppelbrechung im Durchschnitt knapp unter dem Normalbereich (s. Punkt 3).
6. Die Retikulozyten bei einem Fall von Thalassaemie (Th. minor) zeigen im Vergleich zum Gesunden einen erhöhten Anteil von Zellen mit doppelbrechenden Granula.
7. Den Fällen von Anämien werden in mehrtägigen Verläufen ein Fall von Glomerulonephritis und ein Fall von Herzinsuffizienz gegenübergestellt.
8. Die vier Blutproben aus der Nabelvene des Neugeborenen zeigen durchweg eine im Vergleich zum Erwachsenen stark erhöhte Anzahl doppelbrechender Retikulozyten, u. zw. ca. 60 - 80 %.
9. An Retikulozyten vom Kaninchen und Hausschwein sind nach Supravitalfärbung mit Toluidinblau ebenfalls Doppelbrechungserscheinungen, die denen des menschlichen Blutes gleichen, nachzuweisen.
10. Die beschriebenen doppelbrechenden Strukturen in der Substantia granulofilamentosa beruhen auf der gerichteten Einlagerung von Farbstoffteilchen des Toluidin in Strukturen des Protoplasmas. Sie stehen in engem Zusammenhang mit den Reifungsvorgängen, denn sie sind im Normozyten nicht zu beobachten.

Literaturverzeichnis

1. B o c k, H.E., E.H. G r a u, P. G e l i n s k i, H. H u n d e s h a g e n, W. K a u f m a n n, H. K l i n k e und H. N i e t h:
"Blutvolumen-und Erythrozytenüberlebenszeit-Bestimmungen mit Hilfe von Cr⁵¹-markierten Erythrozyten."
Strahlentherapie 115, 1961, 163-174
2. C e s a r i s - D e m e l, A.: "Studien über die roten Blutkörperchen mit den Methoden der Färbung in frischem Zustande."
Folia haematologica 4, 1907, Supplement Heft 1, S.1-32
3. D u s t i n, Jr.P.: "Les erythrocytes mammaliens"
Arch. biol. Paris, 55, 1944, 285
4. E g g s t e i n, M.: "Über Erythrozyten - Lipide beim Menschen."
Neuntes Freiburger Symposion der Gesellschaft der deutschen Haematologen "Zyto-und Histochemie in der Haematologie."
Springer Verlag, 1963, S. 459
5. F i c h s e l, H., K. G e l i s s e n und H. W e i c k e r t:
"Der Hämoglobingehalt des Retikulozyten."
Folia haematologica (Neue Folge) 4, 1959, S.77-91
6. G r u n d m a n n, : "Allgemeine Cytologie - Einführung in die funktionelle Morphologie -."
Thieme-Verlag 1964, S.258
7. H e c k n e r, F.: "Polysaccharide in Blut-und Knochenmarkszellen."
Neuntes Freiburger Symposion der Gesellschaft der deutschen Haematologen: "Zyto-und Histochemie in der Haematologie."
Springer Verlag 1963, S. 409-410
8. H e i l m e y e r, Ludwig und Herbert B e g e m a n n:
Handbuch der Inneren Medizin, Band 2: "Blut und Blutkrankheiten."
Springer Verlag 1951, S.66 und S.97-102
9. H e i l m e y e r, Ludwig: "Reifungsstudien an überlebenden Retikulozyten und ihre Bedeutung für die Schätzung der täglichen Hämoglobin-Produktion in vivo."
Zeitschrift für klinische Medizin 121, 1932, 361
10. I s t o m a n o w a, G.: "Experimentelle Untersuchungen über Erythropoese."
Zeitschrift für experimentelle Medizin, 52, 1939, 140
11. J u n g und A s e n: "Über Retikulozyten."
Klinische Wochenschrift 1944, 115
12. K u n z e r, W. und E. S c h ü t z: "Vergleichende Untersuchungen zur Aminosäurezusammensetzung des Eiweißes von Retikulozyten-und Erythrozytenstromata."
Folia haematologica 76, 1959, 303-312
13. L o n d o n, Irving M., David S h e m i n and D. R i t t e n-berg: "Synthesis of Heme in vitro by the immature nonnucleated mammalian Erythrocyte."
The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 183, 1950, 753-755

14. M a r d e r s t e i g, Ch.: "Über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Erythropoese."
Strahlentherapie, 59, 1937, 609
15. M a r m o n t, A. und E. D o m a s i o: "Ergebnisse der Fluoreszenzzyto- und Histochemie in der Haematologie."
Neuntes Freiburger Symposium der Gesellschaft der deutschen Haematologen: "Zyto- und Histochemie in der Haematologie."
Springer Verlag 1963, S. 113-116
16. M e r k e r, H.: "Grundlagen zur klinisch-morphologischen Blutdiagnostik mit Hydrolasen."
Neuntes Freiburger Symposium der Gesellschaft der deutschen Haematologen: "Zyto- und Histochemie in der Haematologie."
Springer Verlag 1963, S.241-242
17. M i s s m a h l, H.P.: "Metachromasie durch gerichtete Zusammenlagerung von Farbstoffteilchen, erläutert am optischen Verhalten des Toluidinblau."
Histochemie 3, 1964, 396-412
18. M i s s m a h l, H.P.: " Nachweis von doppelbrechenden Strukturen im Protoplasma der Leukozyten des peripheren Blutes nach Supravitalfärbung mit Toluidinblau beim Menschen."
Klinische Wochenschrift 42, 1964, 750-751
19. M u n k - P l u m, C.: "Untersuchungen der Erythropoese in der Knochenmarkkultur."
Schweizerische Medizinische Wochenschrift 40, 1948, 988-990
20. N i z e t, A. and F.S. R o b s c h e i t - R o b b i n s: "Reticulocyte Ripening in Experimental Anemia and Hypoproteinemia."
Blood 5, 1950, 648
21. P a p p e n h e i m, A.: "Einige Bemerkungen über Methoden und Ergebnisse der sogenannten Vitalfärbung an den Erythrozyten."
Folia haematologica 4, 1907, Supplement Heft 1, S.46-50
22. R a p o p o r t, S.M. und W. S t r a s s n e r: "Das Verschwinden der Substantia reticulofilamentosa bei Versuchen in vitro."
Folia haematologica 76, 1959, 322-327
23. R a p o p o r t, J u n g, R i n d, R u h e n s t r o t h - B a u e r: Diskussion zu Stobbe, H. und H. Rind: "Morphologische Beobachtungen an Retikulozyten." (s.d.)
Folia haematologica 76, 1959, 360-361
24. R i v a, G.: "Dunkelfelduntersuchungen an Retikulozyten und basophil punktierten Erythrozyten."
Schweizerische Medizinische Wochenschrift 79, 1949, 840-842
25. R u h e n s t r o t h - B a u e r, Gerhard: "Die Struktur der Säuger-Erythrozyten."
Handbuch der gesamten Haematologie, Band 1, 1. Teil, S.213, 216, 221-223, Urban & Schw'berg 1957
26. S c h i m m e l f e l d e r, N.: "Grundlagen und Anwendung der Fluoreszenzmikroskopie."
Neuntes Freiburger Symposium der Ges. der deutschen Haematologen: "Zyto- und Histochemie in der Haematologie"
Springer Verlag 1963, S. 100

27. S c h m i d t, W.J.: "Instrumente und Methoden zur mikroskopischen Untersuchung optisch anisotroper Materialien mit Ausschluß der Kristalle."
Handbuch der Mikroskopie in der Technik, Band 1, Teil 1, S. 149 - 315
28. S e n o, S.: "Die Struktur der Retikulozyten."
Handbuch der gesamten Haematologie, Band 1, 1. Teil, S. 229-234, Urban & Schw'berg 1957
29. S e y f a r t h, :
Folia haematologica, 34, 1927
30. S i m m e l, : "Zur Biologie der Erythrozyten.", Verh.d. Deutschen Ges. f. Innere Medizin, 36, 1924, 144
31. S t o b b e, H. und H. R i n d: "Morphologische Beobachtungen an Retikulozyten mit dem Phasenkontrastverfahren."
Folia haematologica 76, 1959, 353-359
32. U n d r i t z, E.: "Die Peroxydasereaktion und ihre praktische Bedeutung."
Neuntes Freiburger Symposium der Ges. der deutschen Haematologen: "Zyto-und Histochemie in der Haematologie."
Springer Verlag 1963, S. 194-195
33. U n g r i c h t, M.: "Die Wechselbeziehungen der menschlichen Retikulozyten im Knochenmark und im peripheren Blut."
Folia haematologica 60, 1938, 145-204
34. W e i c k e r, H., J. K u j a t h und H. F i c h s e l:
"Achromocyten und Achromoreticulocyten."
Acta haematologica 21, 1959, 329-345
35. W e i c k e r, H. und H. S c h a r f e n b e r g e r:
"Das Megaloblasten-Erythroblastenproblem unter karyo- und zytometrischen Gesichtspunkten."
Deutsches Archiv für klinische Medizin, 202, 1955, 141, 158-159
36. W i t t e k i n d, D.: "Über die Bedeutung der Vitalfluorochromierung für die Haematologie und für die Bedeutung zytostatischer Effekte in der Zytologie."
Neuntes Freiburger Symposium der Ges. der deutschen Haematologen: "Zyto-und Histochemie in der Haematologie."
Springer Verlag 1963, S. 131-136

A. Krankenblatt Nr. 16 316, geb. 19.10.36,
stationär vom 3.12.64 - 1.2.65

Anamnese: Der Vater soll einen Ikterus gehabt haben.
Der Patient selbst war angeblich nie ernstlich krank.
Seit einigen Monaten fühlt sich der Patient, der aus Griechenland stammt, sehr müde. Seit 6 Wochen bestehen über den ganzen Kopf hinwegziehende Schmerzen.

Befund: Subikterus der Skleren, Haut blaßgelblich.
L a b o r b e f u n d: Hb 8,4 g%, Ery 3,9 Mill.,
Leuko 9500. Deutliche Poikilozytose und Anisozytose, vereinzelte Targetzellen, reichlich basophil getüpfelte Erythrozyten. Retikulozyten im peripheren Blutbild stets erhöht, weitere Zeichen der Hämolyse: Fe 167 %, Haptoglobin vermindert. Bilirubin 3,6 mg%, davon indirekt 3,4 mg%. LDH zwischen 400 und 500 E.

Untersuchung des Hb: Hb A₂ = 4,1 %, Hb F = 13,9 %.

Verlauf: Keine wesentliche Besserung.

Therapie: Weil keine erhöhte Speicherung, wird von Milzextirpation abgesehen.
Kontrolluntersuchung in 3 Monaten vereinbart.

Diagnose: Thalassaemia minor.

Ba. Krankenblatt Nr. 12 091, geb. 21.8.39,
stationär vom 16.10.-1.12.63
und 7.12.-20.12.63

Anamnese: Ein Bruder der Patientin sei früher vorübergehend blaß gewesen. Sonstige Familienanamnese unauffällig.
Die Patientin hatte mit 3 Jahren Gelenkrheumatismus. Gynäkologische Anamnese normal, keine Schwangerschaften.
Seit Sommer 1962 zunehmende Müdigkeit und Schwarwerden vor den Augen beim Bergaufgehen.
Medikamentenanamnese: unauffällig, kein Genußmittelabusus.

Aufnahme+

Befund: (16.10.63) Erhebliche Anämie.
Blutbild: Hb 5,5 g%, Ery 1,9 Mill., Ery-Durchmesser: 7,5, Retikulozyten 196 %, Leukozyten 6000.
Indirektes Bilirubin 2,0 mg%, LDH 1500 E. Maier-Hegglin test immer positiv, keine Haptoglobine, im Urin kein Hb.

Therapie: Bluttransfusionen (gewaschene Erythrozyten) 6 x 250 ccm innerhalb von 20 Tagen. Weitgehende Normalisierung des roten Blutbildes.

Befund: (7.12.63, Wiederaufnahme)
In der Nacht zuvor Hämoglobinurie von 205,6 mg%. Auch an den folgenden Tagen noch tags und nachts hochgradige Hämoglobinurie, die mit Einsetzen der Periodenblutung verschwand. Hb 9,0 g%, Ery 2,8 Mill., LDH 2280 E.

Verlauf u.

Therapie: Der Krankheitsverlauf hat sich seitdem etwas günstiger entwickelt. Patientin steht unter ambulanter Kontrolle und erhält bei Anämisierung in kurzen stationären Aufenthalten Transfusionen gewaschener Erythrozyten. Bei den letzten Untersuchungen war zu keiner Tageszeit Hb im Urin.

Diagnose: Marchia fava - Anämie.

Bu. Krankenblatt Nr. 15 937, geb. 21.11.1911,
stationär vom 15.10.-23.12.64

Anamnese: Die Patientin wurde kürzlich wegen eines Carcinoms der Mamma operiert.

Aufnahme-

Befund: (15.10.64) Ausgeprägte Anämie.
Hb 7,2 mg%, Ery 1,87 Mill., Ery-Durchmesser 7,4,
Retikulozyten 18%, Leuko 2500, LDH 350 E.

20.10.: Thrombozyten 23 000, Haptoglobin 96 mg%, Reti 12%.

27.10.: Sternalpunktat: extrem zellarmes Mark, Erythropoese stark links verschoben

4.11.: Thrombozyten auf 11 000 abgesunken

26.11.: Immer noch Temperaturen über 38° C.

7.12.: Hb 6,48, Ery 2,1 Mill., Reti 16%, Leuko 2500

28.12.: Tod durch Myocardinfarkt.

Therapie: Primobolan-Depot, Megacillin, Durenat, Hostacortin-H.

Diagnose: Panmyelopathie (Anämie) nach Mamma - Ca.,
Glutathion - Reduktase - Mangel.

Ga. Krankenblatt Nr. 15 459, geb. 3.1.16
stationär vom 14.8.-24.9.64

Anamnese: Seit einer Erkältung vor 6 Wochen ist die Patientin kurzluftig und leidet unter Schwindelgefühl und Herzklopfen.

Aufnahme-

Befund: (14.8.64) Deutlich reduzierter A.Z. Haut und sichtbare Schleimhäute schlecht durchblutet. Mäßige ikterische Verfärbung der Skleren. T 38°C.

L a b o r w e r t e: Hb 7,2 g%, Ery 1,5 Mill.,
Retikulozyten 80%. 4900 Leuko, Diff.-Blutbild unauffällig. Bilirubin 3 mg%, davon indirekt 2,5mg%.
Coombs-Test indirekt positiv, Kälte-Agglutinine negativ.

17.8.: Absinken des Hb auf 5,22 g%

21.8.: Abfall des HB auf 4,14 g%, Ery 1,41 Mill.
Hostacortinbehandlung begonnen.

22.8.: Retikulozytenkrise bis auf Werte von 190%.

- 2.9.: BSG bei 37°C normal, bei Zimmertemperatur und Kälte dagegen stark beschleunigt.
- 8.9.: Hohe BSG bei Kälte; bei Zimmertemperatur normalisiert. Rückgang des Bilirubins auf 1,0 mg%.
- 15.9.: Weiterer Anstieg von Hb und Ery, rückläufige Entwicklung der LDH und der Retikulozytenzahl.
- 24.9.64: Entlassung in gutem A.Z., Furodantinbehandlung wegen entzündlichen Urinbefundes. Hb 14,4 g%
- 19.10.64
(Wiederaufnahme) Hb 9 g%, Ery 2,85 Mill., Retikulozyten 17%. Stark vermindertes Haptoglobin, Kälte-Agglutinin-Nachweis 1:2028, Coombs-Test positiv. BSG bei Zimmertemperatur nach 2 Std. 20 mm, bei Kälte 46 mm.
- Therapie: Wie vorher, 50 mg Hostacortin absteigend bis 5 mg Erhaltungsdosis.
- 30.11.64: Hb 13,7 g%, Ery 4 Mill., Haptoglobin normalisierte sich, Kälte-Aggl.Titer jetzt 1:128, Reti 14%, BSG 5/8 mm.
- Diagnose: Erworbene hämolytische Anämie, wahrscheinlich auf immun-hämatologischer Grundlage.

Gö. Krankenblatt Nr. 12 883, geb. 20.2.1895

- Anamnese: Mit 15 Jahren habe die Patientin an "Gliederweh" gelitten. Seit 1950 besteht Atemnot, die sich seit 1962 sehr verschlechtert hat. Sie leidet unter starkem Husten, nächtlichem Erbrechen, Herzstolpern und Beinödemen. Seit Mitte 1963 ist sie bettlägerig.
- Während des Klinikaufenthaltes vom 8.10.63 bis 5.11.63 besserte sich der Allgemeinzustand etwas. Am 25.2.64 erneute Einweisung in sehr schlechtem A.Z.: Starke Zyanose und Ruhedyspnoe, leichte praesacrale Ödeme, ausgedehntes Lungenemphysem. Im Blutbild keine wesentlichen Besonderheiten.
- Am 26.2.64 Tod durch Herzversagen.
- Therapie: Kombinationsbehandlung von Lanicor, Novocamid, Diuretica und salzfreier Diät.
- Diagnose: Cardiale Dekompensation bei kombiniertem Mitralvitium und Emphysebronchitis.

H. Krankenblatt Nr. 8734, geb. 26.11.42,
stationär vom 7.6. - 11.7.62

- Anamnese: Die Mutter soll 1939 Gelbsucht gehabt haben, ist seither nicht mehr aufgetreten.
- Der Patient selbst hatte 1955 erstmalig Gelbsucht von dreiwöchiger Dauer mit gelegentlichem

leichten Fieber. 1957 trat wieder ein ikterischer Schub von 2 Wochen Dauer auf. In der Folgezeit immer wieder Schübe mit Pausen bis zu 3 Monaten. Kein Genußmittel-Abusus, keine Medikamenten-Anamnese.

Aufnahmebefund: (7.6.62) Skleren-Ikterus, hohe Stirn, angedeuter Turmschädel, hoher Gaumen.
Leber 2 QF unter dem re. Rippenbogen, mäßig derb.

Verlauf: Ikterus max. 8,8 mg%, minimal 3,95, indirektes Bilirubin deutlich erhöht. Osmot. Resistenz deutlich herabgesetzt, keine Anämie, Hämolyse verfrüht. Retikulozyten dauernd bis 85 % erhöht, im Sternalpunktat gesteigerte Erythropoese. Price-Jones-Kurve: Basis verbreitert.

Zwischenanamnese 1962 - 1964:

Immer wieder Gelbsucht gehabt, im Abstand von 3 - 6 Wochen, besonders bei schwerer körperlicher Belastung. Dauer jeweils 4-5 Tage. Sonst keine Beschwerden.

Wiederaufnahme: (25.5.64) Leber 1 QF verbreitert, Milz 2 QF bei Inspiration tastbar, Serum-Bilirubin 4,4 mg%, direkt 1,0 mg%. Retikulozytenzahl 29-50%, Erythrozytenüberlebenszeit mit 15 Tagen deutlich vermindert.

Therapie: 22.6.64 Milzextirpation.

Diagnose: Familiäre sphärozyte hämolytische Anämie

K. Krankenblatt Nr. 13 807, geb. 28.1.86
stationär vom 30.1. bis 26.3.64

Anamnese: Bei der Patientin ist seit 1949 eine perniciöse Anämie bekannt. 1949 und 1950 wurde eine stationäre Behandlung mit Vit. B12 durchgeführt. Es folgten ambulante Behandlungen mit Vit. B12 bis 1954. 1960 wurde ein Diabetes mellitus festgestellt, die Einstellung erfolgte mit Nadisan und Rastinon.

Aufnahmebefund: Deutlicher Subikterus der Haut und Schleimhäute. Teilweise atrophische Zungenschleimhaut; Mundwinkelrhagaden. Keine sicheren neurologischen Ausfälle. Blutbild: Hb 10,4 g %, Ery 2,58 Mill., Durchmesser 8,4 - 8,8. Retikulozyten 34%, Leukozyten 4 450, Thrombozyten 149 000, HbE 40,5 pg. Megalozyten 6 %. Ausgeprägte Anisozytose, Poikilozytose und Polychromasie. Sternalpunktat: Megaloblast. Elemente zu 74 % der Erythrozytären Reihe. Laborwerte: Bilirubin 1,6 mg%, direkt negativ. LDH 416 E bei sonst normalen Serumfermentaktivitäten. Haptoglobinspiegel 0 mg%, Eisenspiegel

198 Gamma %, osmotische Erythrozyten-Resistenz 0,32 - 0,52. Schilling-Test positiv. Stoffwechsel-Status der Erythrozyten: Gehalt an Erythrozytenenzymen im ganzen erheblich erhöht.
Kein Anhalt für Magen-Neoplasma.

Verlauf:

19.2.: Beginn des Schilling-Testes.

22.2.: Retikulozyten steigen an.

27.2.: Schilling-Test verläuft ganz planmäßig.

3. 3.: Auf wiederholte B₁₂-Gabe kein erneuter Retikulozyten-Anstieg.

26.3.: Entlassung bei Wohlbefinden.
Ordinatio: 1000 Gamma B₁₂ pro Monat.

Nach der ersten Testdosis von Vit. B₁₂ kam es zu einem Retikulozytenanstieg auf maximal 130 % am 6. Tag. Im Laufe von 4 Wochen fielen die Retikulozyten auf Normalwerte ab. Der Eisenspiegel sank nach 8 Tagen auf 33 Gamma % und stieg erst nach Substitution mit Ferro-Redoxon nach 3 Wochen auf 111 Gamma % an. Der Haptoglobinspiegel betrug nach 14 Tagen 77 mg%, nach 4 Wochen 107 mg%. Die Lactatdehydrogenase zeigte nach B₁₂-Medikation Normalwerte. Der Hb-Gehalt der Erythrozyten war nach 9 Tagen auf 12,4 g%, ihre Zahl auf 3,5 Mill., angestiegen. Der Durchmesser betrug nach der gleichen Zeit 7,8 , der HbE 36 pg.

Diagnose: Perniciöse Anämie, Diabetes mellitus.

L. Krankenblatt Nr. 13 840, geb. 31.5.1926,
stationär vom 16.12.63 - 20.1.64

Anamnese: Die Patientin war bisher nie ernstlich krank. Zu Pfingsten 1963 hatte sie eine fieberhafte Erkältung; sie habe eine Woche Bettruhe gehalten und Chinintabletten genommen. Im Sommer 1963 fühlte sie sich auffallend müde. Im September 1963 trat Atemnot auf, im Oktober wurde eine erhöhte BSG festgestellt. Bei zwei stat. Aufenthalten am R. Bosch-Krankenhaus in Stuttgart wurden 2 Bluttransfusionen durchgeführt, da das Hb auf 74 % abgesunken war. Röntgenologisch wurden Gallensteine festgestellt. Im November stieg die Temperatur zeitweilig auf 38,5° C an.

Aufnahme-
Befund:

(16.12.63) Mäßiger Ikterus. L a b o r b e f u n d:
Hb 8,4 g%, Ery 2,33 Mill., HbE 37 pg, Erythrozyten-Durchmesser 7,4 . Retikulozyten 85 %. Rotes Blutbild: Anisozytose und leichte Polychromasie. LDH 237 E, LE-Test negativ, Haptoglobin 4 mg%.
Kälteagglutinine: bei 20°C 1:16 positiv, 1:32 negativ
bei 60°C 1: 8 positiv, 1:16 negativ

Bilirubin: direkt positiv, gesamt 2,45 mg%.
Spektrophotometrischer Nachweis von freiem Hb im Serum: 6,1 mg%.

Verlauf: Zunahme des Hb von 8,4 über 8,8 und 9,4 auf 9,7g% am 9.1.64. Retikulozytose am 9.1.64 von 144 %.

Rückgang der BSG von maximal 100/116 auf 40/74.

Ikterus abgebläßt.

Im weiteren Verlauf besserten sich das Allgemeinbefinden und die Leistungsfähigkeit etwas, blieben aber noch unzureichend. Von einer Corticoid-Behandlung wurde abgesehen, da dadurch keine wesentliche Besserung eintrat. Die Zeichen der Hämolyse blieben seit Juni 1964 unverändert: Retikulozyten um 60 %, Haptoglobin hochgradig erniedrigt, indirektes Bilirubin etwas erhöht.

Die ambulante Untersuchung am 11.1.65 ergab:

Ery 4,0 Mill., Hb 13,96 g%.

Die Patientin ist ohne Beschwerden, fühlt sich leistungsfähiger als früher. Daher vorerst keine weiteren Untersuchungen.

Diagnose: Erworbene hämolytische Anämie.

P. Krankenblatt Nr. 14 481, geb. 16.1.15, weibl.
stationär vom 20.4.-55.64

Befund: Bilirubin 2,2 mg%, indirekt 0,4 mg%.

Die Erhöhung des Eisenspiegels sowie der niedrige Haptoglobinspiegel sprechen für eine geringgradige Hämolyse.

Coombs-Test: negativ

Das Differentialblutbild war bis auf eine geringgradige Monozytose unauffällig.

Therapie: Novadral, Librium.

Diagnose: Dyskinese der Gallenblase, Hypotonie, geringgradige Hämolyse.

Sch. Krankenblatt Nr. 13 756, geb. 14.2.31
stationär: 23.1. - 4.3.64
1.4. - 28.4.64

Anamnese: Der Patient war früher angeblich nie ernstlich krank. 1958 fühlte er sich zeitweise müde und schlapp.

Er klagt jetzt seit ca. 1 Jahr über Nachlassen der Leistungsfähigkeit; beim Stehen und bei Belastung Schwarzwerden vor den Augen und Ausbruch von kaltem Schweiss. Vor etwa 1 1/2 Jahren bemerkte er gelegentliches Milzstechen. Vom Hausarzt wurde ein Milztumor von 3 QF und ein erhöhter Blutdruck festgestellt.

Aufnahme-
Befund

(23.1.64) Milztumor von 3 QF, derb und scharfrandig. Blutbild unauffällig.

Vegetative Zustände (Angstgefühle, Schwindelerscheinungen, Schwitzen).

Für eine geringgradige, evtl. in Schüben verlaufende

Hämolyse sprechen:

1. Ein mit 138-161 Gamma % leicht erhöhtes Serumeisen.
2. Eine einmal aufgetretene Retikulozytose von 30 %.
3. Eisenspeicherung im RES.
4. Ein R/W-Verhältnis im Sternalmark von 67/100.

Wiederaufnahme: (1.4.64) Die Zeichen der vegetativen Dystonie sind stark ausgeprägt. Die Milz ist nach wie vor mit derbem, glattem Rand 8 cm unterhalb des Rippenbogens inspiratorisch tastbar. Blutbild: Hb 16,2 g%, Ery 4,05 Mill., Retikulozyten 2-45 %.

Bilirubin 0,9 mg%.

Für eine Hämolyse sprechen ferner folgende Untersuchungsergebnisse:

1. Verminderung der Erythrozyten-Lebensdauer auf 23 Tage.
2. Gesteigerte, jedoch nicht linksverschobene Erythropoese im Sternalmark: R/W = 51/100
3. Eine intermittierend auftretende Retikulozytose.
4. Ein mit 258 Gamma % erhöhter Serumeisenspiegel.
5. Haptoglobin i. Serum ist mit 0 - 5 mg% deutlich erniedrigt.

Die vergrößerte Milz erklärt sich durch den gesteigerten Erythrozyten-Umsatz.

Zu einer Anämie ist es noch nicht gekommen.

Diagnose: Chronisch kompensierte Hämolyse mit Splenomegalie.
Vegetative Dystonie.

V. Krankenblatt Nr. 14 525, geb. 8.12.10,
stationär vom 24.4. - 14.7.64

Anamnese: Die Patientin hatte mit 25 Jahren Diphtherie. Seit 1957 ist sie wegen eines schweren Vitium cordis und Hypertonus invalidisiert. Seit 3 Wochen hat sie erhebliche Dyspnoe, besonders nachts, mit Schweißausbrüchen und Schmerzen in der linken Thoraxseite. Die Patientin hatte schon immer leicht geschwollene Beine.

Aufnahmebefund: (24.4.64) Aus den Laborbefunden: Hämatokrit 34 %, Hb 9,5 g%, Ery 3,5 Mill. Bilirubin 1,8 mg%, Retikulozyten 26 %.

Bei der Aufnahme befand sich die Patientin in cardial dekompensiertem Zustand. Im Blutbild zeigte sich eine deutliche Anämie. Die Thoraxaufnahme ergab eine deutliche Stauungslunge und rechts basale bronchopneumonische Herde. Der Rastinontest deutete auf einen latenten Diabetes hin.

Die Leber war 5 QF derb vergrößert. Im Urin lag der Eiweißgehalt bei 1/2 % n. Esbach.

Verlauf und Therapie: Die nachgewiesene Stauungsproteinurie mit cardial bedingter renaler Insuffizienz und die nachgewie-

sene Stauungsleber mit leichter Bilirubinerhöhung bildeten sich unter der eingeleiteten antibiotischen, diätetischen und digitalisierenden Behandlung recht gut zurück.
Die Patientin wurde mit folgender Behandlung entlassen: 3 x 1/2 Tabl. Lanicor
3 x 1/2 Tabl. Adelphan-Esidrix.

Diagnose: Dekompensierte Mitralinsuffizienz, Hypertonus, Anämie.

W. Krankenblatt Nr. 12 388, geb. 20.9.43,
stationär vom 7.8. - 29.11.63

Anamnese: Familie ist gesund. Der Patient selbst ist stark retardiert; er litt schon immer unter starkem Durst. 1961 hatte er mehrere tetanische Anfälle, er wurde deswegen stationär behandelt. Seit Ostern 1963 liegt bei dem Pat. eine dauernde Krampfbereitschaft vor; es kam zu täglich mehrfachen tetanischen Anfällen.

Der Pat. wird zur Klärung der Diagnose aufgenommen.

Aufnahmebefund: Erheblich reduzierter Allgemeinzustand. Haut und sichtbare Schleimhäute auffallend blaß. Deutlicher Foetor uraemicus. Reflexe sehr lebhaft.
Laborwerte: Hb 10,8 g%, 3,6 Mill. Ery, Leuko 6100, Diff.-Blutbild unauffällig. Serumharnstoff 270 mg%, Serumkreatinin 8,6 mg%. Serum-Kalium 3,7 mval, Serum-Calcium 3,0 mval, Serum-Natrium 144 mval.
Tetanische Anfälle auf Grund der Hypokalzämie.

Verlauf und Therapie:

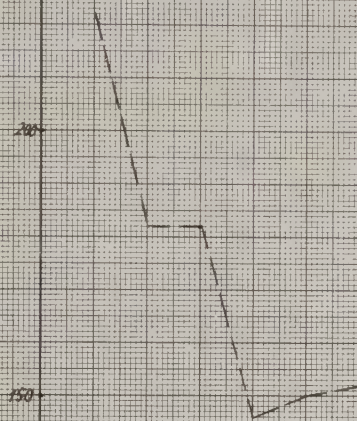
Deutlicher Abfall des Serumharnstoffes bei Behandlung mit eiweißarmer Schonkost und reichlicher Flüssigkeitszufuhr. Nach Zulage von 30 g Eiweiß Wiederanstieg des Harnstoffes bis 340 mg%, Serumkreatinin 12,6 mg%.
Mit Na-Laktat Beherrschung der Azidose, Wiederauftreten von tetanischen Anfällen. Gleichzeitig schwere Hypokaliämie (2,7 mval). Durch Substitution mit Kaliumchlorid, Kaliumbicarbonat, Natriumlaktat und Kalzium-Glukonat weitgehender Ausgleich der Elektrolyt-Störungen.
Wegen Anämie mehrere Erythrozyten-Transfusionen; tägl. 3 x 1 Tabl. Primobolan.
Es traten keine tetanischen Anfälle mehr auf, Gewichtszunahme 8 kg. Prognose ungünstig.

Pat. verstarb am 3.9.64 zu Hause.

Diagnose: Chronische Niereninsuffizienz bei dysplastischer Niere links. Schwere Störung des Wasser- und Elektrolythaushalts.

I: I., Krankenblatt Nr. 13 480

1. %₁₀₀ RZ
2. DB



Zeichenerklärung:

Retikulozytenzahl: ————

Stark doppelbrechende Granula: ————

Mittel(gradig) doppelbr. Granula: ————

Schwach doppelbrechende Granula: ————

100

50

18.II 19.II 20.II 21.II 22.II 23.II 24.II 25.II 26.II 27.II 28.II 29.II 30.II 31.II 1.III 2.III 3.III 4.III 5.III 6.III 7.III 8.III 9.III 10.III 11.III 12.III 13.III 14.III 15.III 16.III 17.I 18.I 19.I 20.I 1943/44

1. 2. 10. RZ
2. 2. B

- 58 -

II: V., Krankenblatt Nr. 14 525

200

150

100

50

5.VI 8.VI 17.VI 25.VI 3.VII 9.VII 14.VII 1964

→ T



III: Ge., Krankenblatt Nr. 15 459

200

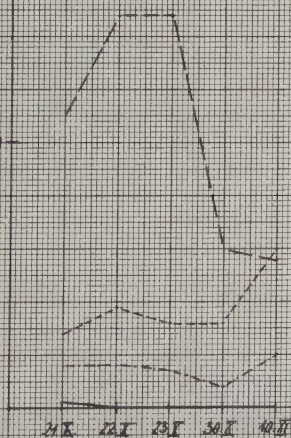
150

100

50

21. I 22. I 23. I 24. I 25. I

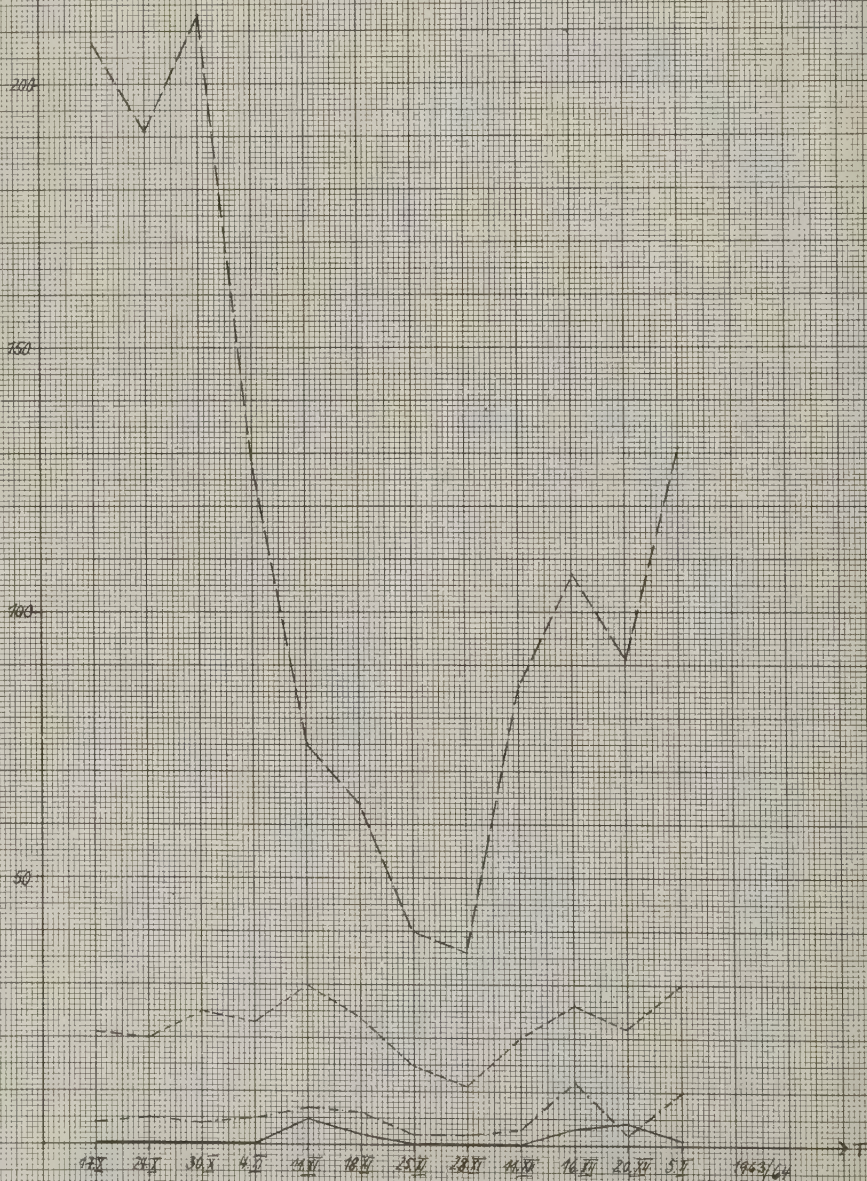
87



- 60 -

← $\frac{S}{100}$ RZ ↑
↓ DB

IV: Ba., Krankenblatt Nr. 12 091



V: K., Krankenblatt Nr. 13 807

1. % RZ

2. DB

200

150

100

50

5 I 6 I 21 I 25 I 28 I 6 II 13 II 20 II 23 II 1964

> T



1. % RZ

- 62 -

2. DB

VI: GÖ., Krankenblatt Nr. 12 883

200

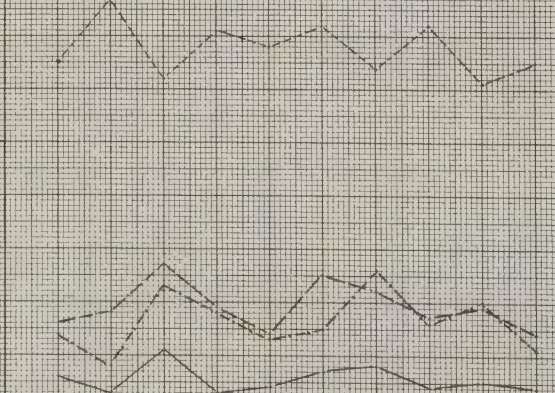
150

100

50

17.X 18.X 19.X 20.X 21.X 22.X 23.X 24.X 25.X 26.X 27.X 28.X 29.X 30.X 31.X 1963

→ T



1. % RZ $\nearrow$
2 DB

- 63 -

VII: W., Krankenblatt Nr. 12 388

200

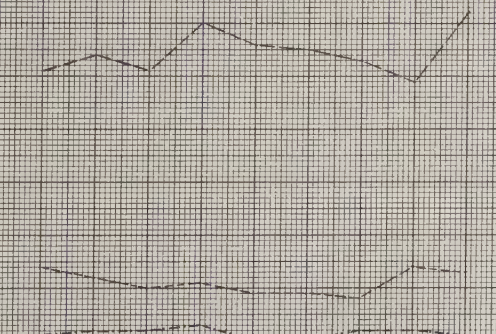
150

100

50

16 I 17 I 18 I 19 I 20 I 21 I 22 I 23 I 24 I 25 I 26 I 27 I 28 I 29 I 30 I

T



An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. M i s s m a h l
für die Überlassung des Themas sowie die liebenswürdige
Beratung und Unterstützung herzlichen Dank aussprechen.

Herrn Prof. Dr. B o c k danke ich herzlich für die
Bereitstellung des Arbeitsplatzes in der Medizinischen
Klinik Tübingen.

Der Firma E. L e i t z, Optische Werke in Wetzlar,
gebührt mein aufrichtiger Dank dafür, daß sie mir das Polari-
sationsmikroskop leihweise zur Verfügung stellte.

L e b e n s l a u f

Als Sohn des Dr. phil. Josef Grehn und seiner Ehefrau Lore, geb. Ullmann, wurde ich, Michael Grehn, am 1. Mai 1938 in Weilburg/L. geboren.

Nach Grundschuljahren und einjährigem Besuch des Realgymnasiums in Weilburg siedelte die Familie nach Schleswig - Holstein über. Dort setzte ich meine Schul- ausbildung an der Waldhäuser - Oberschule in Hamburg - Volksdorf und an der Stormarn - Oberschule in Ahrensburg fort. Nach erneutem Umzug der Familie besuchte ich das Goethe - Realgymnasium in Wetzlar. An dieser Schule bestand ich im Februar 1959 das Abitur.

Im Sommersemester 1960 begann ich nach einjähriger Militärzeit das Medizinstudium an der Justus- Liebig - Universität in Gießen. Dort legte ich im Februar 1961 das Vorphysikum und im Oktober 1962 das Physikum ab.

Zum klinischen Teil des Studiums wechselte ich nach Tübingen über. Hier bestand ich im Juli 1966 an der Eberhard - Karls - Universität das Staatsexamen.

